Aus der Klinik für Haut- und Geschlechtskrankheiten der
Universität Würzburg
Vorstand: Professor Dr. med. H. S c h u e r m a n n

U n t e r s u c h u n g e n ü b e r d i e M o t i l i t ä t v o n H o d e n s p e r m a t o z o e n a n B u l l e n

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius - Maximilians - Universität Würzburg

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Hermann S i g l e r

aus Plochingen

Würzburg 1955

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Aus der Klinik für Haut- und Geschlechtskrankheiten der
Universität Würzburg
Vorstand: Professor Dr. med. H. S c h u e r m a n n

U n t e r s u c h u n g e n ü b e r d i e M o t i l i t ä t v o n H o d e n s p e r m a t o z o e n a n B u l l e n

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius - Maximilians - Universität Würzburg

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Hermann S i g l e r

aus Plochingen

Würzburg 1955

Tag der mündl. Prüfung:

5. Aug. 1955

Referent: Professor Dr. med. H. S c h u e r m a n n

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität Würzburg

Meinem lieben Großvater

in Dankbarkeit

gewidmet

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543521_0115

INHALTSVERZEICHNIS

Untersuchungen über die Motilität von Hodenspermatozoen

	Seite
I. Einleitung und Fragestellung	1
II. Erläuterung des Begriffes der Motilität von Spermatozoen	3
III. Der Einfluß einer Unterbindung der samenabführenden Wege auf die Spermatogenese	4
IV. Bisherige Kenntnisse und Anschauungen über Spermatozoen	5
1.) Das Spermatozoon	5
2.) Die Bewegung der Spermatozoen	5
3.) Der Protoplasmatropfen	7
4.) Der Einfluß des Nebenhodens auf die Bewegung	8
5.) Der Einfluß des O_2 auf die Bewegung	9
6.) Der Einfluß der Temperatur und der CO_2 auf die Bewegung	9
7.) Der Einfluß verschiedener Flüssigkeiten auf die Bewegung	11
V. Die Bedeutung der Beweglichkeit für die künstliche Insemination	13
VI. Besamung und Befruchtung	16
VII. Allgemeines über Ammoniumsalzwirkung	22
VIII. Eigene experimentelle Untersuchungen an Bullenhodenspermatozoen	24

Seite

1.) Fragestellungen zu den Untersuchungen 24
2.) Versuchsanordnung 27
3.) Fehlerquellen 29
4.) Untersuchungsergebnisse in Bezug auf: 31

a) Verhältnis der normalen Spermatozoen zu Spermatozoen ohne Kopf in der Suspension
b) Verhältnis von Hodenspermatozoen mit Protoplasmatropfen zu Hodenspermatozoen ohne Protoplasmatropfen
c) die Morphologie der Hodenspermatozoen

5.) Besprechung der Ergebnisse hinsichtlich der Motilität bei Hodenspermatozoen 35

a) Hodenabklatsch-Praeparate
b) Bewegung in Ringer-, Locke-, physiologischer NaCl- und isotonischer NH_4Cl-Lösung
c) Streuungsbreite der Bewegung in NH_4Cl-Lösung
d) Bewegung bei NH_4Cl-Glukose, -Fruktose, -Serum und NH_4Cl - NaCl - $NaHCO_3$
e) Bewegung bei $NaHCO_3$ - NaOH - Na_3PO_4
f) Bewegung bei verschiedenem pH-Wert
g) Bewegung bei Zimmer- und Körpertemperatur
h) Bewegung bei verschiedenen Mengen von Ausschwemmungsflüssigkeit
i) Bewegung bei verschiedenem osmotischen Druck der Ausschwemmungsflüssigkeit

6.) Vitalitätsuntersuchung (Eosintest) bei Hodenspermatozoen in isotonischer NH_4Cl-Lösung 44

IX. Diskussion 45

X. Zusammenfassung 48

XI. Literaturverzeichnis 51

I. Einleitung und Fragestellung

Über Hodenspermatozoen liegen bisher nur sehr wenige Untersuchungen vor. Diese wenigen Untersuchungen geben übereinstimmend an, daß nur ganz geringgradige Beweglichkeit vorhanden ist, die sich auf wenige Stunden beschränkt (B e l o n o s c h k i n, K n a u s). Entgegen der früher herrschenden Ansicht, daß die Spermatozoen lediglich durch den Sekretabfluß in den Nebenhoden gelangen, weiß man heute nach Beobachtungen von R e d e n z, der verschiedene Säugetiere daraufhin untersuchte (Maus, Kaninchen, Hund, Schaf, Ziege, Rind und Pferd), daß die Spermatozoen sich schon im Hoden und im Rete testis mit eigener Kraft fortbewegen. So wandern sie, wenigstens zum Teil aus eigenem Antrieb, gegen den Flimmerstrom des Wandepithels des langen Gangsystems vom Hoden und Nebenhoden in den Nebenhodenschweif (K n a u s). Bei R e d e n z führten Spermatozoen im Stierhodenparenchym sogar, wenn er sie bestimmten Bedingungen unterwarf, äußerst lebhafte Bewegungen aus, die den lebhaften Bewegungen von Nebenhodenschweifspermatozoen nicht nachgestanden haben sollen.

Auf ihrer Wanderung vom Rete testis bis zum Nebenhodenkopf nehmen die Spermatozoen stetig an Bewegungspotenz zu, im Nebenhodenschweif sind sie ruhig gestellt, besitzen aber eine maximale Bewegungsfähigkeit und außerhalb des Körpers eine lange Bewegungsdauer. Die Eigenschaft der langen Bewegungsdauer der Spermatozoen wird als Zeichen ihrer "Reife" angesehen. R e d e n z ist der Ansicht, daß die "Reife" nach der Durchwanderung des Ductus epididymis vom Sekret bedingt ist. Unter dem Einfluß des Nebenhodensekrets bekommen die Spermatozoen die Potenz, sich im geeigneten Medium zu bewegen.

K n a u s dagegen deutet die Tatsache, daß die Spermatozoen im Laufe ihrer Entwicklung beträchtlich an Bewegungsenergie gewinnen, durch ein allmählich vor sich gehendes Schwinden einer intrazellulär bedingten Bewegungshemmung. Im Gegensatz zu K n a u s, B e l o n o s c h k i n, R e d e n z u. a. fand M e t t e n l e i t e r bei Spermatozoen, welche aus dem Nebenhodenschweif entnommen wurden, nie eine Bewegung.

Nach R e d e n z ist bei Verlust oder Verschluß des Nebenhodens usw. die Verwendung von Hodenspermatozoen für die Befruchtung unter Umständen von Erfolg begleitet und aussichtsreich. Dabei soll körperwarme Punktionsflüssigkeit und Prostata-Sekret gemischt unmittelbar nach der Entnahme in den Uterus, möglichst aber in die Tube gebracht werden.

Während zahllose Untersuchungen von Ejakulatspermatozoen (A n d e r s o n, G o e t z e, M a c L e o d) vorliegen, insbesondere vonseiten der Veterinärmedizin in Bayern, die sich alle mit der Frage der Verlängerung der Befruchtungsfähigkeit der Spermatozoen für die künstliche Insemination befassen, wurden im Gegensatz hierzu Untersuchungen an Hodenspermatozoen angestellt, die über eine sofortige Verwendung dieser Spermatozoen zur Durchführung einer künstlichen Insemination Aufschluß geben sollten.

Wahrscheinlich sind die Feststellungen der verschiedenen Autoren über die geringe Bewegungsintensität und Bewegungsdauer der Hodenspermatozoen darauf zurückzuführen, daß nicht die richtige Lösung für die Ausschwemmung verwendet wurde. Die jetzigen Untersuchungen galten der Frage, ob bei Hodenspermatozoen durch einen Hemmungsmechanismus die Bewegung herabgesetzt wird, der aufgehoben werden kann. Tierversuche wurden angestellt, um Analogieschlüsse dafür gewinnen zu können, ob Hodenspermatozoen zur homologen künstlichen Insemination bei Menschen mit einem Verschluß der samenabführenden Wege gegebenenfalls verwendet werden können.

Nach Untersuchungen von W e i s s ist im Nebenhoden geschlachteter Bullen eine Bewegung der Spermatozoen bei sofortiger Verarbeitung der Hoden festzustellen, was durch eigene Beobachtungen bestätigt werden kann. Daher bestünde durchaus die Annahme zurecht, daß mit diesen Spermatozoen sich Befruchtungserfolge erzielen lassen. Voraussetzung dafür wäre, daß geeignete Verdünnungsmedien, die den Sekretflüssigkeiten entsprechen müssten, hinzugefügt werden.

Wie die neueren Untersuchungen von D o e p f m e r ergaben, konnte durch die Verwendung des Ammoniumchlorids als Ausschwemmungsflüssigkeit für die Hodenspermatozoen eine beträchtliche Steigerung der Quantität und Qualität der Bewegung erzielt werden. Dies gilt sowohl für tierische Hodenspermatozoen, bei denen er eine Quantität der Bewegung bis zu 90 % und eine Bewegungsdauer von 56 Stunden beobachtete, als auch für menschliche Hodenspermatozoen, deren Bewegungsquantität 72 % betrug und die sich in mehreren Fällen bis zu 28 Stunden bewegten. Die jeweils erreichte Qualität der Bewegung war von einer solchen Intensität, die nach G o l d und Mac L e o d für die Befruchtung ausreicht. Nach D o e p f m e r können auch ohne Nebenhodenpassage und Nebenhodenspeicherung die unteren Grenzwerte der Zahl, der Motilität und der Morphologie, bei denen noch Befruchtungen beobachtet wurden, erreicht werden. Dies lässt die Verwendung von Hodenspermatozoen für die künstliche Insemination aussichtsreich erscheinen, sofern zur Gewinnung der Hodenspermatozoen eine geeignete Methodik angewandt wird, für die nach D o e p f m e r die Excision und nachfolgende Ausschwemmung in Frage kommt.

II. Erläuterung des Begriffes der Motilität von Spermatozoen

Die Motilität, die Bewegung der Spermatozoen, nimmt unter den verschiedenen Erscheinungsformen der biologischen Bewegung insofern eine Sonderstellung ein, da sie weder eine dauernde Lebensäußerung des Spermatozoons noch eine von den Spermatozoen selbst gesteuerte, intermittierende Leistung darstellt, wobei das Außergewöhnliche an dieser Bewegungsart ist, daß der einmalige, zeitlich mehr oder weniger kurz sich erweisende - je nach dem Verdünnungsmittel - Geschehensablauf durch die chemisch-physikalische Zusammensetzung der das Spermatozoon umgebenden Flüssigkeit bedingt ist (D o e p f m e r). R e d e n z unterscheidet zwischen Bewegung und Beweglichkeit von Spermatozoen, und zwar versteht er unter Beweglichkeit die den reifen Spermatozoen schon im Hoden eigene Bewegungsfähigkeit, die an die Gegenwart des Achsenfadens gebunden ist, während die Bewegung von der vorhandenen umgebenden Flüssigkeit der Spermatozoen, dem Medium abhängt. Unter Auslösung der Bewegung wird

das Auftreten der Bewegung im Versuch unter dem Einfluß bestimmter Flüssigkeiten verstanden.

Die Motilität der Spermatozoen muß aufgegliedert werden in die Quantität der Bewegung (Prozentzahl der sich bewegenden Spermatozoen) und die Qualität der Bewegung (Grad der Intensität der Bewegung der Spermatozoen). Die Zahl der sich bewegenden Spermatozoen sagt für sich allein wenig aus, zur Beurteilung der Qualität eines Spermas oder einer Spermatozoensuspension ist es von großer Wichtigkeit, den Grad der Bewegungsintensität zu wissen. Nach R e d e n z zeigen Reagenzien, die schnellere Kontraktionen verursachen, kürzere Bewegungsdauer, was dafür sprechen soll, daß heftigere Bewegung mit grösserem Stoffumsatz einhergeht.

III. Der Einfluß einer Unterbindung der samenabführenden Wege auf die Spermatogenese.

Eine der Indikationen für eine künstliche Befruchtung ist das Vorliegen einer Unterbindung der samenabführenden Wege, sei es nun auf artifiziellem, traumatischem oder infektiösem Wege.

Nach K n a u s scheint eine Störung des Abflusses des Samens in die tieferen Abschnitte des Nebenhodenganges weder den Testes selbst, noch den Spermatozoen zu schaden. Dies beweisen seine Versuche der künstlichen Befruchtung von Kaninchen, die positiv ausfielen, mit dem Sperma, das er aus dem Nebenhoden von vasektomierten Rammlern gewann. Es musste den Versuchen entsprechend die Funktion des Hodens durch die Vasektomie keine Störung erlitten haben und die Spermatogenese bis zur Bildung befruchtungsfähiger Samenzellen ungehindert abgelaufen sein, denn die männlichen Tiere waren 1.1/4 Jahre zuvor schon vasektomiert worden. Die Stauung des gebildeten Spermas hatte sich auf den Nebenhodenschweif beschränkt, und K n a u s nimmt daher einen Ventilverschluß am Übergang von Cauda zu Corpus epididymis an, welcher "den Hoden selbst vor einer Stauungsatrophie bewahrt". Nach dem Verschluß des Samenleiters treten bestimmte Sperreinrichtungen

in Tätigkeit, die verhindern, daß eine rückläufige Bewegung des Spermas vom Nebenhodenschweif in den Nebenhodenkörper eintritt. K n a u s bezeichnet sie als die natürlichen Schutzmaßnahmen für den Hoden bei Verschluß der distal gelegenen Teile des Ausführungsganges. Nach D o e p f m e r waren auch bei Meerschweinchen, deren samenabführende Wege er operativ verschloß, keine deutlichen Unterschiede bezüglich der Zahl der Motilität und der Morphologie der Hodenspermatozoen dieser Tiere gegenüber nichtoperierten Tieren vorhanden, also keine Schädigung der Spermatogenese eingetreten.

L a v e s und S p a t h konnten an vasektomierten menschlichen Hoden weder Früh- noch Spätschädigungen beobachten. G u i c e t t i, K r i s c h n e r, P r i e s e l, V e r o c a y u. a. (cit. nach K n a u s) fanden ebenfalls an menschlichen Hoden bei angeborener Defektbildung des Nebenhodens und Samenleiters normal funktionierende Hoden. Die nach der Samenleitersperre auftretende Spermastauung im Nebenhodenschweif ist nicht in der Lage, sich über diesen hinauf gegen den Nebenhodenkörper und schließlich den Hoden selbst auszubreiten.

IV. Bisherige Kenntnisse und Anschauungen über Spermatozoen

1.) Das Spermatozoon

Die Spermatozoen, welche sich vom spezifischen Hodenepithel losgelöst haben und durch die Tubuli contorti in das Rete testis kommen, sind bereits in diesem Stadium bezüglich ihrer endgültigen äußeren Form, soweit dies bis jetzt beurteilt werden kann, vollkommen entwickelt. Sie bestehen aus den Hauptabschnitten Kopf, Halsstück, Verbindungsstück, Haupt- und Endstück des Achsenfadens. Die Gesamtlänge beträgt bei einem Bullenspermatozoon nach W e i s s 65-70 mü.

2.) Die Bewegung der Spermatozoen

P e t e r ' s Untersuchungen ergaben, daß für den Bewegungsvorgang als solchen das Verbindungsstück verantwortlich zu

machen ist. Es stellt das Bewegungszentrum dar. Durch Versuche mit Spermatozoen, die er mittels Glasstaub zerrieb, gelang es R e d e n z alle möglichen Teilstücke von Spermatozoen zu erhalten. War das Verbindungsstück noch erhalten, so war den Samenzellen noch eine Bewegung möglich. Haupt- und Endstück allein lagen stets regungslos im Praeparat. Isolierte Verbindungsstücke bewegten sich wurmartig und langsam.

Der Achsenfaden wird nach B r e t s c h n e i d e r aus dem Fibrillenbündel, dem axialen Filament und zwei artikulären Strängen, die den Schwanz am Kopf befestigen, gebildet. Er ist daher sehr kräftig und gleichzeitig biegsam. Das Filament läuft in 9 Subfibrillen am Endstück aus. Sehr feine, systematisch angeordnete Fibrillen befinden sich in der dünnen Grenzfläche der die Zelle umhüllenden Protoplasmamembran. Diese Fibrillen erwähnt bereits B o n n e t. Um das Verbindungs- und Hauptstück des Schwanzes laufen sie in einzelnen Bündeln spiralförmig herum, um am Endstück des Schwanzes zu endigen. B r e t s c h n e i d e r deutet die funktionelle Beziehung zwischen Axialfilament und Spiralfibrillen so, daß die axialen Fibrillen zur eigentlichen Bewegung des Schwanzes führen, da sie die Fähigkeit haben, sich verkürzen zu können, während die spiralförmig ausserhalb herumlaufenden Fibrillen dann als Antagonisten den gebogenen Schwanz wieder in die normale Lage bringen. Der motorische Impuls wird am oberen Teil des Verbindungsstücks gegeben,und die örtlichen kleineren Verkürzungen der axialen Fibrillen setzen sich wellenförmig bis zum Schwanzende fort.

Voll entwickelte Spermatozoen sind nach K n a u s mit einer potentiellen Bewegungsenergie von bestimmtem Ausmaß aufgeladen. Auf dem Wege eines fermentativen Prozesses im Zellinnern erfolgt die Umwandlung dieser potentiellen in kinetische Energie, welche sich in Bewegungen des Zellschwanzes verbraucht. Der Ablauf dieses Prozesses hängt von bestimmten äusseren thermischen und chemischen Bedingungen ab. (W i n d s t o s s e r). Im Nebenhoden liegen die Spermatozoen in grosser Dichte. Das spezifische, stark gepufferte

Sekret der Nebenhoden von hoher H-Ionen-Konzentration, der herrschende O_2-Mangel, die hohe CO_2-Spannung und die kühle Temperatur des Scrotums wirken auf die Spermatozoen ein, und so verläuft dieser fermentative Prozeß langsam, und die Spermatozoen weisen nur eine geringe Beweglichkeit auf. Je günstiger aber die Bedingungen für den Ablauf dieses Prozesses in der Samenzelle sind, desto intensiver geht er vor sich und desto lebhaftere, aber auch schneller sich erschöpfende Bewegungen führen die Spermatozoen aus (K n a u s).

Die Spermatozoen verlieren auf ihrer Wanderung in den Nebenhodenschweif ihre anfangs in ihnen selbst liegende Bewegungshemmung und werden dadurch immer beweglicher, verlieren jedoch gleichzeitig, wenn auch sehr langsam, infolge des für die Spermatozoen konservierenden Einflusses des Nebenhodens an potentieller Bewegungsenergie und altern. Der Energievorrat einer jüngeren Samenzelle ist daher größer, als der einer älteren (K n a u s).

3.) Der Protoplasmatropfen

Spermatozoen können im Hoden einen Protoplasmarest tragen, den Protoplasmatropfen, in dem noch ein dunklerer ovaler Körper ist, der nach R e d e n z vielleicht ein Rest des Protoplasmas der Spermatide ist. Dieser Protoplasmatropfen ist bald mehr vorne, bald weiter hinten am Verbindungsstück (R e t z i u s). Nach R e d e n z kann man aus dem Sitz dieses Tropfens auf das Alter der Spermatozoen schließen, und zwar tragen die Spermatozoen aus dem Rete testis den Protoplasmatropfen am oberen Teil des Verbindungsstückes, die Nebenhodenschweifspermatozoen am unteren Teil des Verbindungsstücks. Im allgemeinen rückt also der Tropfen auf der Wanderung des Spermatozoons vom Rete in den Schweif am Verbindungsstück abwärts. Vermutlich ändert sich die Lage dieses Protoplasmarückstandes zwangsläufig.
R e d e n z beobachtete, daß sich bei in vitro und 37° C gehaltenen Stierspermatozoen der Tropfen im Verlauf mehrerer Tage etwas herabgezogen hatte und glasig klar geworden war. Ferner sind Spermien, die den Protoplasmatropfen am oberen Ende des Verbindungsstückes tragen, durch eine ziemlich

geringe Bewegungsdauer ausgezeichnet. Auch bei Menschen ist nach K n a u s der oben beschriebene, morphologische Unterschied der Spermien bezüglich des Protoplasmatropfens - hier ein protoplasmatisches Gebilde in Form einer Halskrause darstellend - festzustellen, indem bei den Spermatozoen des Hodens das Gebilde am Kopfende des Verbindungsstücks der Samenzelle bei den Spermatozoen des Nebenhodenkopfes am distalen Ende des Verbindungsstückes sich befindet. K n a u s beobachtete bei menschlichen Spermatozoen aus dem Nebenhodenschweif keinen Protoplasmatropfen mehr. Er schliesst daraus, daß das Spermatozoon diesen Protoplasmatropfen verliert. Somit erlange erst im Nebenhodenschweif das Spermatozoon dasjenige morphologische Aussehen, welches die Voraussetzung für eine normale Befruchtungsfähigkeit sei.

4.) Der Einfluß des Nebenhodens auf die Bewegung

Nach ihrem Eintritt in den Nebenhodenschweif verlieren die Spermatozoen an Bewegung (K n a u s), was zu einer für den Nebenhodenschweif charakteristischen Ruhigstellung der an sich maximal bewegungsfähigen Spermatozoen führt. Nach R e d e n z und v. L a n z wird durch das relativ kleine O_2-Angebot im Nebenhoden für die in großer Dichte beisammen liegenden Spermatozoen und durch CO_2-Überschuß, der durch ein spezifisches Nebenhodensekret von einer hohen H-Ionenkonzentration und starker Pufferung unterstützt wird, eine vorzeitige Erschöpfung der begrenzten Bewegungsenergie der Spermatozoen verhindert. S t i g l e r, M e t t e n l e i t e r und R e d e n z glauben, daß die Spermatozoen im Nebenhoden eine Reifung durchmachen, die sich in größerer Widerstandsfähigkeit gegen Wärme, Säuren, Salze und den Vorgang der Entladung ausdrückt. Die Erhaltung der Bewegungspotenz sei eine Folge der Nebenhodensekretion. Den "Reifungsvorgang" stellt die Vereinigung von Spermatozoon und Sekret dar. Nach L o e b kommt es zur Bildung von "festen Häutchen". R e d e n z glaubt an eine echte Schutzkolloidwirkung. Nach K n a u s scheidet das Neben-

hodenepithel ein zähes, klebriges Sekret ab, das sich auf die Spermatozoen bei ihrer Wanderung durch den Nebenhodengang in Form einer schutzkolloidalen Hülle niederschlägt.

5.) Der Einfluß des O_2 auf die Bewegung

Nach R e d e n z, H e r t w i g und L i p s c h i t z sind Spermatozoen ohne O_2-Zufuhr nicht in der Lage, eine Bewegung auszuüben. Spermatozoen zeigen eine Zunahme der Bewegung bei Zutritt von Luft-O_2. Ein Aufhören der Bewegung wird beobachtet, wenn unverdünnte Schweifspermatozoen in eine Glasglimmerkammer, gebracht werden. Wird die Absperrung längere Zeit durchgeführt, so muß das Sperma zur Bewegungsauslösung erwärmt und verdünnt werden. (Gleichzeitig wird dadurch auch die CO_2 ausgetrieben). Zur Bewegung wird also ein gewisses Übermaß an O_2 benötigt als es zur Lebenserhaltung notwendig ist.

6.) Der Einfluß der Temperatur und der CO_2 auf die Bewegung

Eine Erhöhung der Temperatur (wenige Minuten auf 38°C) hat zur Folge, daß zuvor infolge Abschlusses von der Luft unbewegliche Spermatozoen sich nunmehr wieder bewegen. Zufuhr von CO_2 hemmt die Bewegung wieder. Dies lässt die Belebung durch Wärme als Bewegungseffekt deuten, der durch die Austreibung der CO_2 ermöglicht wird (R e d e n z). Tiefe Temperaturen sind für die Bewegung ungünstig. Sie rufen langsamere Bewegungen hervor, sind aber dementsprechend für die Bewegungsdauer von Vorteil (M e t t e n l e i t e r). Sie hemmen die Bewegung, erhalten aber die Bewegungsdauer. Die Zellatmung erfährt bei erhöhten Temperaturen eine Beschleunigung und bei niedrigen Temperaturen eine Verminderung.

Es sei in diesem Zusammenhang an die besondere Lagerung der Hoden, aus dem Körperinnern in das Scrotum, erinnert. Auf die Hoden selbst ist nach K n a u s der Einfluß einer Temperaturerhöhung von verhängnisvoller Bedeutung. Schon 1891 wies P i a n a (Cit. nach K n a u s) darauf hin, daß der Hoden weißer Ratten bei experimentellem Kryptorchismus einer Atrophie

infolge der höheren Temperatur in der Bauchhöhle verfällt. Diese grundlegende Entdeckung blieb jedoch fast völlig unbekannt. Auch H a r t wies darauf hin, daß es zu einer Degeneration der samenbildenden Zellen und schließlich zu einer nahezu vollständigen Zerstörung des Hodenparenchyms bei grauen Hausmäusen kommt, wenn diese Tiere bei 32 - 40°C gehalten werden. Er glaubte, daß es sich um eine Schädigung der Schilddrüse und des Gesamtstoffwechsels handelt, die ihrerseits sekundär zur Degeneration der Hoden führen. Die von P i a n a erstmals erkannte organspezifische Wärmeempfindlichkeit der Hoden der Scrotalsäuger wurde von C r e w, F u k u i und M o o r e (cit. nach K n a u s) neuerlich entdeckt, welche für ihre Untersuchungen Maus, Ratte, Meerschweinchen, Kaninchen, Hund, Schaf, Ziege, Stier und Pferd heranzogen. Auf die verschiedensten Arten wurde eine Überwärmung der im Scrotum liegenden Hoden dieser Tiere herbeigeführt. Die Schwere der Degeneration war proportional der Höhe der angewandten Temperatur und der Dauer ihrer Einwirkung. Vergleichende Temperaturmessungen der genannten Autoren ergaben, daß im Scrotum eine um 2,5 - 10°C tiefere Temperatur herrscht, als in der Bauchhöhle bei den von ihnen untersuchten Tieren. D i c k wies diese Temperaturunterschiede ebenso für den Menschen nach.

Damit ist nach K n a u s "endgültig bewiesen, daß das Scrotum ein die Wärme lokal regulierendes Organ darstellt, dem die Aufgabe zukommt, einer Erwärmung der Testes bis zur Körpertemperatur entgegen zu arbeiten". An der Thermoregulierung sind Perspiration und Schweißsekretion, die Tunica dartos und die besondere Anordnung der Arteria spermatica beteiligt.

R e d e n z führt auf die CO_2-Bindung und die Aufhebung der H-Ionenwirkung die belebende Wirkung des Alkali auf die Spermatozoen zurück. Die Regulation der Bewegung ist unter anderem als eine Wirkung der CO_2 anzusehen, die ihrerseits wiederum in hohem Maße von der Temperatur abhängt. So fanden H ö h n e und B e h n e, daß sich Spermatozoen in der Scheide toter Tiere länger am Leben erhalten, als in der Scheide lebender

Tiere. S t i g l e r gibt an, daß Temperaturen von der Höhe des Fiebers schon nach wenigen Stunden zur Wärmestarre der isolierten menschlichen Spermatozoen führen.

N ü r n b e r g e r und G u g g e n b e r g e r stellten fest, daß menschliche Spermatozoen bei Zimmertemperatur (18-20°C) in vitro viel länger als im Brutofen beweglich bleiben. M e t t e n l e i t e r fand ebenfalls bei kalt aufbewahrten Spermasuspensionen eine bedeutend längere Lebensdauer der Spermatozoen als in bei Zimmer- oder Körpertemperatur gehaltenem Sperma. M o e n c h (cit. nach K n a u s) stellte fest, daß Spermatozoen unabhängig in welcher Nährlösung man sie aufschwemmt, bei Körpertemperatur die kürzeste Lebensdauer besitzen. Nach allen diesen Beobachtungen ist der ungünstige Einfluß der Körpertemperatur auf die Spermatozoen eindeutig bewiesen . (K n a u s).

7.) Der Einfluß verschiedener Flüssigkeiten auf die Bewegung

Die nach dem Tode der Tiere noch in Bewegung befindlichen Rete-Spermatozoen besitzen nur eine geringe Bewegungsdauer. Hauptsächlich der Gehalt an H-Ionen und der Elektrolytgehalt der Rete-Flüssigkeit verhindern die kontinuierliche Ausübung der Bewegung. Die Schweifflüssigkeit weist einen relativen Ionen-Mangel gegenüber der Rete-Flüssigkeit auf. Dieser verzögert den Entladungsvorgang und verlängert die Bewegungsdauer, was sich in der langen Bewegungsdauer der Schweifspermatozoen ausdrückt. Wird Schweifsperma mit physiologischer NaCl-Lösung verdünnt, so nimmt mit steigender Verdünnung die Bewegungsdauer ab. Alle Abweichungen vom Neutralpunkt verringern die Bewegungsdauer. Alkalische Reaktion verstärkt aber die Intensität (Qualität) der Bewegung bedeutend. Jede Erhöhung der Qualität der Bewegung ist durch eine Verkürzung der Bewegungsdauer gefolgt. Ruhende Spermatozoen im unverdünnten Schweifsekret können durch Rohrzucker-, Eiweiß- oder Serumverdünnungen für kurze Zeit zu lebhaften Bewegungen veranlasst werden. Befindet sich das Schweifsekret in einem solchen Zustande, daß nur eine geringe Menge Verdünnungsflüssigkeit zur

Bewegungsauslösung erforderlich ist, dann haben auch schwach saure Lösungen einen belebenden Einfluß. Größere Mengen von Verdünnungsflüssigkeit entkleiden schließlich die Schweifspermatozoen ihres Sekretmantels oder ändern dessen Eigenschaften; die Spermatozoen brauchen die Sekrethülle nicht zu verlieren, es genügt, daß ihre früheren spezifischen Eigenschaften durch eine kolloidale Zustandsänderung verloren gehen. Neutrale isotonische Salzlösungen, alkalische Salzlösungen (pH = 7,8 - 8,5) sowie Temperaturen bis zu 37°C haben eine belebende Wirkung auf die Spermatozoen noch nach dem Tode des Tieres.

Ionen, welche die elektro-negative Ladung der Spermatozoen herabsetzen, verkürzen die Bewegungsdauer, indem sie das elektronegative Kolloid, welches für das im Verbindungsstück liegende Bewegungszentrum einen Schutz darstellt, schneller entladen. Dadurch wird der Weg ins Protoplasma frei, die beim Bewegungsvorgang benötigte Ionenkonstellation wird gestört (R e d e n z) Die Untersuchungen G e l l h o r n ' s zeigten, daß die Bewegungsdauer durch verschiedene Ionen verschieden beeinflusst wird.

Anreicherung von Eiweißkörpern ist für die Dauer der Bewegung von Vorteil. Nach B a r t h é l é m y (cit. nach R e d e n z) wird die Bewegung durch erhöhte Konzentration an Mineralsalzen und organischen Stoffen in der Eiflüssigkeit, welche er für seine Untersuchungen verwandte, gehemmt, während verdünnte Extrakte die Bewegungsdauer verlängern. Ist der Eiweißgehalt vergrössert, so kann auch der Mineralsalzgehalt höher sein.

M e t t e n l e i t e r fand, daß Lösungen mit herabgesetzter Leitfähigkeit, wie Serum-Dextrose-Mischung oder Nebenhodensekret, längste Bewegungsdauer versprechen. Seine, sowie die Bemühungen von R e d e n z, durch Lösungen mit herabgesetzter Leitfähigkeit bei Rete-Spermatozoen lange Lebensdauer zu erzielen, waren erfolglos. Gänzlich durfen dissozierte Salze in der Lösung nicht fehlen. Eine Dialyse des Sekrets würde die Spermien schädigen.

V. Die Bedeutung der Beweglichkeit für die künstliche Insemination

Man muß annehmen - solange nicht der Beweis für das Gegenteil erbracht ist - daß das Spermatozoon eine Beweglichkeit besitzen muß, um das Ei zu erreichen und zu befruchten (Mac L e o d und G o l d). Daraus folgt, daß ein Sperma, in dem keine beweglichen Spermatozoen sich befinden, selbst bei hoher Spermatozoenzahl in der Einheit keine Konzeption hervorbringen wird. Aus anderen Untersuchungen von Mac L e o d und G o l d geht hervor, daß zwischen Fertilität und Spermatozoenzahl keine Beziehung besteht, sofern sich diese über einer Zahl von 20 Millionen pro ccm hält. Dies vergrößert die Bedeutung der Beziehung zwischen Bewegungsaktivität und Befruchtungsvermögen. Weder Spermatozoenzahl noch Motilität allein können als ein Kriterium des Befruchtungsvermögens eines Spermas betrachtet werden. Bei fertilen Männern findet man bei niedriger Spermatozoenzahl bessere Motilität der Samenzellen als bei infertilen, und bei schlechter Motilität grössere Spermatozoenzahlen. Es besteht also eine gewisse Kompensation, was bei der infertilen Gruppe nicht in diesem Maße der Fall ist.

Sicherlich weist selbst das qualitativ beste Ejakulat nicht 100%ige Bewegung der Spermatozoen auf. Zwar ist dies schon lange bekannt, aber nach Mac L e o d und G o l d scheint es wichtig, nochmals ausdrücklich zu betonen, daß 75 % bewegliche Spermatozoen eine gute Bewegungsquantität darstellen. Der Mittelwert liegt ungefähr bei 50 - 60 %. Die Chance der Befruchtung steigt mit der Vergrößerung des prozentualen Anteiles an beweglichen Spermatozoen im Sperma. Nach Mac L e o d und G o l d liegt die kritische Grenze, bei welcher der scharfe Unterschied zwischen fertilen und infertilen Männern in Erscheinung tritt, bei weniger als 40 % beweglichen Samenzellen im Sperma.

Ebenso wie die Quantität schwankt auch die Qualität der Bewegung der Spermatozoen beträchtlich bei den einzelnen Individuen im Samen normal fruchtbarer Männer.

Mit Sicherheit kann man sagen, daß nicht alle beweglichen Spermatozoen eines Spermas die gleiche Qualität der Bewegung aufweisen, und daß beinahe ausnahmslos immer einige Samenzellen dabei sind, welche eine extrem träge Bewegung zeigen. Diese Zellen kann man aber bei der Untersuchung eines Spermas auf Beweglichkeit vernachlässigen und zwar deshalb, weil der Nachweis bisher nicht gelungen ist, daß die in vitro träge beweglichen Spermatozoen in den Sekreten des weiblichen Genitaltraktes sich mit einer ebenso geringen Qualität bewegen würden.

Zur Zeit kann nicht mit Überzeugung gesagt werden, was wichtiger für die Befruchtung ist, die Qualität der Bewegung oder der Prozentsatz an Zellen in Bewegung. Die Chancen für die Konzeption steigen sowohl bei vermehrter Quantität als auch bei besserer Qualität. Sowohl für die fertile wie infertile Gruppe gilt, daß Qualität und Quantität der Bewegung der Spermatozoen unabhängig von der Zahl der Spermatozoen in enger Beziehung zueinander stehen (Mac L e o d und G o l d).

Es erhebt sich nun überhaupt die Frage, ob man die Ergebnisse der Spermatozoenbewegung in der Samenflüssigkeit in vitro zu einer Aussage über ihr Verhalten bezüglich der Beweglichkeit im weiblichen Genitaltraktus heranziehen kann. Daß dies nicht ohne weiteres gerechtfertigt scheint, geht nach Mac L e o d und G o l d aus folgenden Tatsachen hervor: Die Spermatozoen werden mit dem größten Anteil der Samenflüssigkeit erst im Moment der Ejakulation vermischt. Beinahe gleichzeitig wird das Ejakulat beim oder in der unmittelbaren Nähe des os externum abgelagert. Diejenigen Spermatozoen, die eventuell die Umgebung des Eies in der Tube erreichen, wandern sehr schnell in den zervikalen Schleim weiter. Deshalb sind die Spermatozoen, welche den Uterus und die Tuben erreichen, nur sehr kurze Zeit in der Samenflüssigkeit suspendiert. Daraus folgt, daß die Samenflüssigkeit für die Spermatozoen, wenn es sich um längere Zeitdauer handelt, kein physiologisches oder notwendiges Milieu darstellt.

Aus diesem Grunde hat die Überlebenszeit der Spermatozoen in der Samenflüssigkeit wahrscheinlich keine unbedingte Beziehung zu ihrer Lebensdauer im weiblichen Genitaltrakt. Mac L e o d und G o l d sind der Ansicht, daß eine Untersuchung über die Bewegung von Spermatozoen, sofern sie in der Samenflüssigkeit in vitro und über längere Zeitabschnitte vorgenommen wird, keine Rückschlüsse erlaubt in Bezug auf das Verhalten der Spermatozoen im weiblichen Genitaltrakt. Die genannten Autoren stimmen jedoch mit anderen in dieser Hinsicht überein, daß Spermatozoen, falls sie 24 Stunden lang eine gute Bewegung in der Samenflüssigkeit beibehalten, im weiblichen Genitaltrakt ebenfalls eine gute Bewegung aufrecht erhalten würden.

Wie aus den Untersuchungen von Mac L e o d und G o l d hervorgeht, ist die untere Grenze der normalen Fruchtbarkeit in Bezug auf die Spermatozoenzahl 20 Mill/ccm (totale Spermatozoenzahl 50 Mill.) Die unterste Grenze für den Prozentsatz beweglicher Spermatozoen liegt bei 40 %. Dies bedeutet, daß 20 Millionen bewegliche Spermatozoen im Ejakulat eines Mannes die unterste Grenze einer normalen Fruchtbarkeit darstellen. Diese 20 Millionen sollen eine Bewegungsqualität von zumindest 2 besitzen, die Qualität, die nicht als besonders intensiv anzusehen ist. (Der Wert 2 bezieht sich auf die Gradeinteilung der Bewegungsqualität nach Mac L e o d und G o l d). F a l k und K a u f m a n berichten in ihren Untersuchungen an 100 fertilen Männern über einen Mittelwert von 61 % beweglicher Samenzellen im Sperma, eine Zahl, die mit dem Mittelwert von Mac L e o d und G o l d gut übereinstimmt.

Die Beweglichkeit stellt nach K n a u s jedoch kein Kriterium für die Befruchtungsfähigkeit dar, denn nach seinen Untersuchungen nimmt die Befruchtungsfähigkeit schneller als die Bewegung ab. Er schließt daraus, daß die allmählich abnehmende Beweglichkeit kein sicheres Zeichen, selbst wenn günstige Bewegungsbedingungen vorliegen und die Spermatozoen morphologisch normal erscheinen, der Befruchtungsfähigkeit darstellt. Nur die morphologisch und funktionell ausgereiften Spermatozoen mit der für sie kennzeichnenden Kraft zu lebhafter Progression seien

befruchtungsfähig. Zur Erklärung dafür führt K n a u s folgende Gesichtspunkte heran:

Die Spermatozoen haben von ihrem Ablagerungsort, der Vagina, bis zum ovariellen Ende der Tube eine lange Strecke mit vielen Hindernissen zurückzulegen. Dabei dürfen sie sich nicht erschöpfen, denn sie müssen, um an das Ei heranzukommen und es befruchten zu können, erst den dichten Kranz der Follikelephitelzellen (corona radiata) abdrängen. Um diese Aufgabe zu erfüllen, braucht das Spermatozoon eine große Bewegungskraft.

VI. Besamung und Befruchtung

Niedrige, im Wasser lebende Tiere, haben zumeist eine sogenannte äußere Besamung, die höheren, landlebenden Tiere, haben die innere Besamung, das heißt, die Besamung und Befruchtung findet im weiblichen Genitale statt. Mit bestimmten Instrumenten nun lassen sich die Spermatozoen so einführen, daß ihnen ein Teil des Weges zum Eileiter erspart bleibt. Diesen Vorgang bezeichnet man als Samenübertragung oder künstliche Insemination. Dadurch ist es möglich, die Zahl der einzuführenden Spermatozoen zu vermindern. Gleichzeitig ist damit eine Erhöhung der Sicherheit des Befruchtungsvorganges gegeben. Unter Besamung versteht man die Einführung der Samenflüssigkeit, die eine außerordentlich große Zahl von Spermatozoen enthält, in das weibliche Genitale. Dabei sind die Spermatozoen noch mehr oder weniger weit entfernt von dem Ort, an dem sie mit der Eizelle nach der Ovulation zusammentreffen. Bei Kühen wie bei vielen anderen Tieren ist die Ovulation eine spontane, von der Paarung völlig unabhängige.

Um eine genügende Anzahl von Spermatozoen in der Samenflüssigkeit zu gewährleisten, muß die Spermatogenese normal sein. Die Umwelteinflüsse haben auf die Spermatogenese verständlicherweise einen vielseitigen und einschneidenden Einfluß. So vor allem die Zufuhr von Eiweißkörpern. Durch Gaben von tierischem Eiweiß konnte bei Bullen eine Erhöhung der Spermatozoenzahl im cmm auf

5 - 6 Millionen (gewöhnlich 0,8 - 2 Millionen) erzielt werden. Ein Ejakulat hat dann durchschnittlich also 25 Milliarden Spermatozoen (M i l o w a n o w cit. nach G o e t z e). Gleichfalls wirkt fördernd auf die Spermatogenese tägliche Bewegung bzw. leichte Arbeit, da dadurch eine Anregung sämtlicher Organe ausgeht.

Vitamin-A-Mangel hat einen Rückgang sowohl der Samenmenge an sich als auch der Qualität der Spermatozoen zur Folge.

Vitamin C (Ascorbinsäure) ist ein ständiger Bestandteil des Wiederkäuerspermas.

Vitamin E (Tocopherol) hat eine starke Wirkung auf die Tätigkeit der Hoden und die Spermatogenese. Folgezustände eines Vitamin-E-Mangels sind Degeneration und Atrophie des Keimepithels und Unfruchtbarkeit (R o s e n b e r g e r 1941).

Auch fieberhafte Allgemeinerkrankungen sowie insbesondere Hauterkrankungen, besonders dann, wenn die Haut des Hodensackes mit ergriffen ist, haben einen großen Einfluß auf die Spermatogenese im Sinne von Degenerationserscheinungen und Abstoßungen des samenbildenden Epithels, auch Röntgen- und Wärmestrahlen führen zur Degeneration des samenbildenden Epithels, Verschlechterung des Samens, Rückgang der Spermatozoendichte, Abnahme der Beweglichkeit und Anstieg der Zahl der krankhaften und unreifen Spermatozoen (L a g e r l ö f).

Nach G o e t z e bewirken dauernder Entzug des Sonnenlichts sowie dauernder Lichtüberschuß ebenfalls interessanterweise Hemmungen der Samenbildung.

Auf die innersekretorischen Wirkungen der Hypophyse und der Testes auf die Spermatogenese und auf die wichtigen endokrinen Beziehungen dieser beiden Drüsen zueinander soll im Rahmen dieser Arbeit nicht eingegangen werden.

Die einphasisch ejakulierenden Wiederkäuer haben einen sehr kleinen Samenerguß, beim Bullen durchschnittlich 4,6 ccm, die in etwa einer Sekunde mit dem Nachstoß ausgestoßen werden. Bei diesen Tierarten werden die geringen Sekretmengen der Samenblasen und der Prostata gleichzeitig und vermischt mit dem Nebenhodensekret ausgestoßen. Das kleine, sehr dichte Ejakulat wird nach G o e t z e an die vordere Wand des dorsalen Scheidengewölbes gesetzt, meist median über die portio vaginalis uteri, um über den äußeren Muttermund auf den Boden des Scheidengewölbes abzufließen, wo eine Vermischung mit dem Brunstsekret stattfindet. Es handelt sich also bei den Wiederkäuern einwandfrei um eine Scheidenbesamung.

Mehrphasisch verläuft die Ejakulation bei Pferd, Schwein und Hund, Tieren, bei welchen die Ejakulation durch Friktionsbewegungen ausgelöst wird. Die Sekrete von Samenblasen und Prostata werden getrennt vom eigentlichen Samenerguß ausgestoßen, indem sich erst spermatozoenreiches, aus dem Nebenhodenschwanz kommendes Ejakulat ergießt; erst dann wird das Anhangsdrüsensekret ausgestoßen, in dem wenige, aus dem Nebenhoden kommende Spermatozoen zu finden sind. Die Sekretmenge der Anhangsdrüsen ist bedeutend größer als bei den Wiederkäuern, dadurch entstehen große, aber weniger dichte Gesamtejakulate (beim Hengst 120, Eber 250, Hund 20 - 30 ccm).

Der Samenerguß von Hengst, Eber, Hund, Fuchs, Meerschweinchen Ratten und Mäusen wird zum größeren Teil schon während der Ejakulation durch den Zervikalkanal in die Gebärmutter gebracht. Bei diesen Tieren findet also eine Uterusbesamung statt. Man nimmt an, daß wellenförmige Kontraktionen der Gebärmutter dabei eine ansaugende Wirkung auf die Samenflüssigkeit ausüben (G oe t z e).

Dies ist ein wichtiger Unterschied gegenüber den Wiederkäuern, denn für die Samenübertragung, die künstliche Insemination, ist es nicht gleichgültig, an welche Stelle des Genitaltraktes das Sperma gebracht wird.

Bei Tieren mit Scheidenbesamung sind nach Quinlan, Maré und Roux (cit. nach Goetze) schon nach wenigen Minuten, längstens aber nach 1 - 1.1/2 Stunden nach der Ejakulation etwa 5 % der Spermatozoen des Gesamtejakulats in den Zervikalkanal eingedrungen. Dies sind beim Rind mindestens 100 Millionen Spermatozoen. 20 Minuten bis 6 Stunden vergehen nach der Paarung, bis die Spermatozoen beim Schaf den Weg bis zu den Hornspitzen und Eileitern zurückgelegt haben. (Anderson 1945). Bei Kühen sind mindestens 5 - 6 Stunden nötig (Brewster, May und Cole 1948).

Die übrigen 95 % der in die Scheide abgesetzten Spermatozoen gehen dort zugrunde oder gelangen mit dem Scheideninhalt nach außen. Der Zervikalkanal der Wiederkäuer bietet dem Aufenthalt der Spermatozoen ein günstiges Milieu durch sein kolloidales, dickflüssiges Sekret und dem nach der sauren Seite hin zuneigenden pH-Wert. Doch gelangen keineswegs alle in den Gebärmutterhalskanal gelangten Spermatozoen in die Gebärmutterhöhle. (Goetze). Nur eine verhältnismäßig kleine Anzahl vermag weiter vorzudringen. Noch kleiner ist deren Zahl im Eileiter. Die Fortbewegung findet aber sehr schnell statt (nach Green und Winters, Phillips und Andrews 1935). Bereits nach 30 - 120 Minuten können die ersten Spermatozoen in den Hornspitzen angekommen sein.

Bei den Tierarten mit Gebärmutterbesamung wird ein Teil der Spermatozoen schon während der Ejakulation infolge der großen Ejakulate und der saugenden Kontraktionen der Gebärmutter bis in die Hornspitzen und damit an die Eileitermündungen gespült. Aktive Fortbewegungen sind dazu nicht erforderlich und höchstens zum Teil wirksam. Für die Samenübertragung ist deshalb wichtig, daß die Spermatozoen rechtzeitig an die Eileiteröffnungen in genügender Dichte in einer ausreichenden Menge Samenflüssigkeit gespült werden (Goetze).

Bisher wurden keine Unterschiede zwischen den Tierarten mit Scheiden- bzw. Gebärmutterbesamung bezüglich des Eindringens von Spermatozoen in den Eingang zum Eileiter und der Fortbewegung in diesem Organ ermittelt.

Sind die Spermatozoen in den Eileiter eingedrungen, so bewegen sie sich teils aktiv fort, teils werden sie unterstützt durch die Flimmerbewegungen des Epithels und die Eileiterbewegungen an sich. Nach Goetze verfallen die sehr zahlreichen in den Falten und Drüsen der Schleimhaut verirrten Spermatozoen, nach Knaus die Mehrzahl der im Uterus sich befindenden Spermatozoen überhaupt, die ihr Ziel nicht erreichen, der Agglutination und werden von heranströmenden mobilisierten Leucozyten phagocytiert. Vervollständigt wird das Bild durch leichte Rötung und Schwellung der Schleimhaut und durch Abstoßung von Epithelien. Es steht dem einer leichten Entzündung als Abwehr-Reaktion sehr nahe, da der weibliche Organismus die Spermatozoen als störende Fremdkörper empfindet. Die Abwehrreaktion ist im abdominalen Ende des Eileiters am heftigsten. Die Aufsaugung der Spermatozoen soll zur Bildung von Spermatotoxinen führen, welche sogar bei genügend hoher Spezifizierung gegen die Spermatozoen ein und desselben Vatertieres gerichtet sein können. Sobotta und Königstein wiesen als erste auf dieses Schicksal der Spermatozoen im Uterus hin und stellten fest, daß nur ein geringer Teil von ihnen den Eileiter erreicht.

Durch den Follikel-Sprung wird das "Reif-Ei" frei und beginnt dann seine Wanderung in Richtung auf die Gebärmutter, wobei es allmählich Teile seines Strahlenkranzes verliert.

Bei den Tieren mit Scheidenbesamung erfolgt erst nach dem Abklingen der äußeren Brunsterscheinungen die Ovulation. Bei freier Wahl kommen die Paarungen also vor der Ovulation zustande. Die Spermatozoen der Wiederkäuer erwarten das ankommende "Reif-Ei" also im Eileiter, und es muß demnach angenommen werden, daß die in den Eileiter eingetretenen Eizellen in wenigen Stunden ihre Befruchtungsfähigkeit verlieren (Goetze). Zur Zeit der Ovulation scheint das Verhalten des Uterus gegenüber den Spermatozoen nach den Angaben von Kugota, Lotze und Schultz (cit. nach Knaus) weniger feindlich zu sein, als in den übrigen Tagen des ovariellen Zyklus und erhöht zusammen mit einem Tiefstand des Säurespiegels im Scheidensekret zu dieser Zeit die Aussichten für eine Befruchtung (Gräfenberg).

V. L a n z (cit. nach K n a u s) bestimmte die Dauer der Befruchtungsfähigkeit der Spermatozoen in der Kuh mit 28 - 30 Stunden, B e l o n o s c h k i n und J o e l stellten fest, daß die Spermatozoen im Cavum uteri nur etwa 24 Stunden beweglich bleiben. Im Schleim der cervix uteri erhalten sie sich am längsten am Leben, da dort für sie wesentlich günstigere Lebensbedingungen vorliegen als in der Gebärmutterhöhle, wo die Abwehr am intensivsten ist. Menschliche Spermatozoen verlieren nach K n a u s ihre Befruchtungsfähigkeit in den höheren Abschnitten der weiblichen Genitalorgane bereits innerhalb der ersten 48 Stunden.

P i n c u s und E n z m a n n stellten durch ihre an Kanincheneiern im vivo und in vitro vorgenommenen Versuche fest, indem sie verschiedene Spermiendichten auf die Eier einwirken ließen, daß zu niedrige Dichte keine Befruchtung ergibt und zu hohe Spermatozoen-Konzentrationen die Eizelle zerstören und auflösen. Nach G o e t z e führt die zu hohe Spermatozoendichte zu krankhafter Polyspermie bzw. Vernichtung der Eizelle; weiterhin zeigen diese Versuche, "daß die Samenzellen in ihrem Endkampf um die Eizelle wichtige, vorbereitende Wirkungen, vielleicht fermentativer, zytolytischer Natur auf die Hüllen der Eizelle haben. Keineswegs reicht dazu die Kraft einer einzelnen Samenzelle aus, sondern es müssen mehrere sein, aber nicht zu viele". Möglicherweise hat die dem Spermatozoon anhaftende Hyaluronidase wie schon M i l l e r und K u r z r o c k (cit. nach K n a u s) annahmen, den Zweck, die Zona pellucida an der Berührungsstelle des Eies mit der Samenzelle aufzulösen und so den Spermatozoen die Vereinigung mit der Eizelle zu ermöglichen.

Die Befruchtung erfolgt dadurch, daß ein oder einige der Spermatozoen durch das Oolemma in den hypolemmalen Raum der reifen Eizelle vordringen. Bis unter die zweite Eihülle, bis zum hypolemmalen Raum, können mehrere Spermatozoen gelangen, jedoch nur eines dringt in das Ei selbst ein. Sobald es nämlich dort ist, verändert sich die Eimembran insofern, als das Eindringen weiterer Samenzellen unmöglich wird (G o e t z e). Nachdem das Spermatozoon die Eimembran durchdrungen hat, findet

eine Amphimixis der Chromosomen, jetzt lediglich eines männlichen Zellkerns mit denen eines weiblichen statt. Mittelstück und Schwanz des Spermatozoons dringen in die Eizelle mit ein, das Mittelstück wird zum Zentrosom, der Schwanz wird dem Protoplasma der Eizelle beigemischt. Das befruchtete Ei wandert nun beim Rind in 3 - 5 Tagen nach einer Schätzung von G o e t z e vom Eileiter zur Gebärmutter, wo es sich in die Gebärmutterschleimhaut einnistet und der Embryo heranwächst.

Wie sich aus den Untersuchungsreihen ergab, erwies sich unter allen für die Ausschwemmung des Hodenparemchyms untersuchten Lösungen die isotonische NH_4Cl-Lösung in Bezug auf die Motilität der Spermatozoen als die geeignetste Lösung.

VII. Allgemeines über Ammoniumsalzwirkung

Nach T r e n d e l e n b u r g haben die Ammoniumsalze folgende pharmakologische Wirkungen:

Der Einfluß der NH_4-Ionen auf Eiweiß und andere Kolloide gleicht der Wirkung der Alkali-Kationen. Fermentative Prozesse erfahren durch NH_4-Ionen meist eine geringe Hemmung. Durch das Überwiegen der fördernden Cl-Ionenwirkung über die hemmende NH_4-Ionenwirkung dürfte die fördernde Wirkung von NH_4Cl auf Invertin zustande kommen.

Ammoniumsalze hemmen oder töten Bakterien erst in stärkerer Konzentration, schwache Lösungen sind ohne jeden Einfluß. Auch für höher stehende pflanzliche Organismen ist die Giftwirkung der Ammoniumionen eine ziemlich geringe. Bezüglich der Durchlässigkeit der Zellen für Ammoniumsalze gehen die Angaben auseinander. Ammoniumchlorid dringt in ungeschädigte Muskelzellen nicht ein, Erythrocyten jedoch sind für NH_4Cl und eine Reihe anderer Ammoniumsalze permeabel, wenn die Lösungen so viel freies Ammoniak enthalten, daß es zu einer Schädigung der Membran kommt; ungeschädigte rote Blutkörperchen lassen keine NH_4-Ionen durchtreten. Die Membranen der Erythrocyten werden bekanntlich bei Steigerung der Acidität der umgebenden Flüssigkeit ionenpermeabel.

Die NH_4-Ionen bewirken, daß dieses Durchlässigwerden schon bei relativ niedrigerer Acidität auftritt.

Auch die Nierenzellen des Frosches lassen NH_4Cl leicht eindringen. Bringt man sie aus physiologischer Kochsalzlösung in isomolekulare Lösungen von NH_4Cl, so nehmen sie große Mengen von Wasser auf: NH_4Cl wandert durch die Zellwand, dabei wird das osmotische Gleichgewicht gestört.

Einige Ammoniumsalze wirken bei allen stärkeren Konzentrationen hämolytisch. Es gelingt bei diesen Salzen nicht, eine die Blutkörperchen nicht schädigende "isosmotische" Konzentration herzustellen. Diese Hämolyse beruht vielleicht auf der Schädigung durch die Reaktion der Lösungen. Auf den Blutfarbstoff haben die Ammoniumsalze keinen spezifischen Einfluß. Zum Teil können sie jedoch, wie manche andere Salze, die Umwandlung des Oxyhämoglobins in Methämoglobin beschleunigen.

Auf das isolierte Herz von Warm- und Kaltblütern äußern die NH_4-Ionen einen fördernden Einfluß, ebenso wird das Schildkrötenherz fördernd beeinflusst. Es handelt sich hierbei um eine spezifische Ionenwirkung und nicht um eine allgemeine Salzwirkung.

Wie am Skelettmuskel ist NH_4Cl auch am Froschherzmuskel elektromotorisch aktiv. Wird die den Aktionsstrom ableitende Elektrode an eine mit Chlorammonium vergiftete Stelle gelegt, so tritt an die Stelle des normalen Elektrokardiogramms ein einphasischer Aktionsstrom.

Isolierte Flimmer-Epithelstücke aus der Rachen- oder Ösophagus-Schleimhaut von Kaltblütern (Frosch usw.) verhalten sich folgendermaßen: Wird ammoniakhaltige Luft über das Flimmerepithel geleitet, so bewirkt dies eine starke Zunahme der Flimmerbewegung. Die zur Messung der Geschwindigkeit der Fortbewegung verwendete "Flimmeruhr" gab Ausschläge, die den Ausgangswert um 50 % übertrafen. Der anregenden Wirkung einer Ammoniak-Lösung der Konzentration 1 : 2000 folgt eine rasche Lähmung der Flimmerbewegung.

Die gleiche fördernde Wirkung auf die Flimmerbewegung der Forschrachenschleimhaut äußern die Ammoniumsalze; nach längerer Einwirkung lähmen sie ebenfalls.

Auch die marklosen Nervenstämme, welche die Chromatophoren von Cephalopoden innervieren, werden durch Ammoniak und durch Ammoniumsalze sehr stark erregt.

NH_4-Ionen haben auf die Skelettmuskulatur des Frosches eine schwache, den Tonus erhöhende Wirkung. Die glatten Muskelfasern des isolierten Hühneroesophagus werden, setzt man zur Nährlösung einige Prozente isotonische NH_4Cl-Lösung zu, verkürzt. Es folgen periodisch wiederkehrende Ausdehnungen und Verkürzungen. Auch auf die Blutegelmuskulatur wirken NH_4-Ionen tonussteigernd und unregelmäßige Kontraktionen auslösend.

VIII. Eigene experimentelle Untersuchungen an Bullenhodenspermatozoen

1.) Fragestellungen zu den Untersuchungen

Zur Beurteilung der Motilität von Hodenspermatozoen bzw. Spermatozoen ganz allgemein und damit hinsichtlich deren eventuellen Befruchtungsfähigkeit kommen folgende Kriterien in Betracht:

a) Die Quantität der Bewegung der Spermatozoen (Zahl der sich bewegenden Spermatozoen).
b) Die Qualität (Intensität) der Bewegung der Spermatozoen.
c) Die Bestimmung der Dauer der Bewegung nach Ausschwemmung in isotoner Lösung.

Die Bestimmung der Lebensdauer der Spermatozoen nach Ausschwemmung in isotoner Lösung kann mit Hilfe des Eosintestes, der eine Methode der Vitalitätsuntersuchung darstellt, ermittelt werden. Bei Hodenspermatozoen liegt die Problematik zunächst darin, überhaupt eine Bewegungsauslösung zu erzielen. Die in dieser Hinsicht angestellten Untersuchungen

hatten den Zweck, festzustellen, welchen Einfluß auf die Motilität der Spermatozoen folgende Faktoren nehmen:

a) Verschiedene Ausschwemmungsflüssigkeiten (Ionenwirkung).
b) Verschiedene Mengen der Ausschwemmungsflüssigkeit.
c) Temperatur (Zimmer- und Körpertemperatur).
d) Verschiedener pH-Wert.
e) Hyper- und Hypotonie des Ausschwemmungsmittels.

Ausserdem wurde bestimmt:

a) Die Bewegungsdauer von Hodenspermatozoen in isotonischer Ausschwemmungsflüssigkeit bei Zimmertemperatur
b) Die Bewegungsdauer von Hodenspermatozoen in isotonischer Ausschwemmungsflüssigkeit bei Körpertemperatur
c) Die Veränderungen der Bewegungsquantität und -qualität während der Zeit der Bewegungsdauer.
d) Die Lebensdauer der Hodenspermatozoen in isotonischer NH_4Cl-Ausschwemmung.

Die Ergebnisse der Untersuchungen wurden ausschließlich durch Untersuchungsfolgen an Bullenhodenspermatozoen gewonnen.

Die zur Untersuchung gelangten Bullen waren etwa 1.1/2 bis 2.1/2 Jahre alt, also bereits im Alter der sog. "Zuchtreife". Bei Verdacht auf Schädigungen der Testes wurde zwecks Ausschluß von falschen Ergebnissen in den Untersuchungsreihen die Funktionstüchtigkeit der Testes dadurch geprüft, indem durch sog. Abklatsch-Praeparate das Vorhandensein einer genügenden Anzahl von Spermatozoen festgestellt wurde. Bei eventueller Schädigung der Testes wurde der Versuch nicht gewertet.

Die Motilitätsstudien an Hodenspermatozoen machten es erforderlich, eine besondere Nomenklatur für die Intensität (Qualität) der Bewegung einzuführen. Die Tabelle, welche den Versuchen zu Grunde lag, wurde von D o e p f m e r aufgestellt. Sie wurde für die Hodenspermatozoen, da sich diese bezüglich der Bewegungsintensität anders verhalten als Ejakulatspermatozoen, nach unten hin erweitert und etwas abgeändert, um den minimalen Bewegungsunterschieden der Hodenspermatozoen gerecht zu werden,

im Vergleich zu den gebräuchlichen, von verschiedenen Autoren angegebenen Einteilungen der Bewegungsintensität nach vier Intensitätsgraden.

0 -	Keine Bewegung
1 (±)	Periodische, ruckartige, ganz geringgradige oszillatorische Bewegung des Schwanzes
2 ±	Stetige, schwache, oszillatorische Bewegung
3 (+)	Starke, oszillatorische Bewegung des Schwanzes
4 +	Kräftige Schwanzbewegung, aber keine Vorwärtsbewegung
5 +(+)	Kräftige Schwanzbewegung mit zeitweiliger träger Vorwärtsbewegung und einseitigen Schwanzschlägen
6 ++	Langsame, zum Teil kreisförmige und irrende Vorwärtsbewegung mit Abbiegung des Schwanzes
7 ++(+)	Langsame, aber konstante gerade Vorwärtsbewegung bei einseitigen Schwanzschlägen
8 +++	Lebhafte Vorwärtsbewegung ohne seitliche Abbiegung des Schwanzes oder einseitige Schwanzschläge
9 +++(+)	Sehr lebhafte und schnelle, geradlinige Vorwärtsbewegung.

Bei dieser Tabelle findet die Quantität der Bewegung jedes einzelnen Grades der Bewegungsintensität keine Berücksichtigung. Eine solche Zählung ließe sich nur sehr schwer durchführen, da schon während der mikroskopischen Beobachtungen Schwankungen in der Intensität der Bewegung bei den verschiedenen Spermatozoen auftreten können. Es wurde deshalb nur festgestellt, welcher Höchstgrad von Intensität der Bewegung bei einzelnen Spermatozoen gefunden werden konnte.

Um vergleichbare Ergebnisse für die verschiedenen Fragestellungen in den Untersuchungsreihen zu erhalten, wurde für alle Untersuchungen dieselbe Methodik zur Gewinnung der Hodenspermatozoenaufschwemmung angewandt. Eine konsequente Durchführung der Methodik ist deshalb wichtig und notwendig, weil schon beim einzelnen Tier und besonders bei den verschiedenen Individuen

normalerweise beträchtliche Schwankungen, größtenteils bedingt durch die angegebenen Fehlerquellen, auftreten können.

Eine Beurteilung der Qualität der Bewegung von Spermatozoen ist nur möglich auf Grund des subjektiven Eindruckes des Beobachters. Exakt messbar ist sie nicht und somit nur durch eine längere Erfahrung, um subjektive Beobachtungsfehler weitgehend zu eliminieren, mit hinreichender Genauigkeit zu bestimmen. Bei doppelten Ablesungen von zwei verschiedenen Beobachtern kam bei der Quantitätsprüfung nie eine größere Differenz von mehr als 8 % und bei der Qualitätsprüfung nie mehr als eine Gradstufe zustande. Die Ablesungen der Motilität erfolgten auf dem Mikroskopiertisch; (Mikroskop: Zeiss-Winkel-Junior) bei einer Temperatur von 25° - 29° C.

2.) Versuchsanordnung

Die untersuchten Bullenhoden stammten von Tieren, die im Städtischen Schlacht- und Viehhof geschlachtet wurden. Nach dem Schlachten der Bullen wurden die Hoden entfernt und auf dem schnellstmöglichen Wege einer Untersuchung zugeführt. Umständehalber lag zwischen dem Tod der einzelnen Tiere und den Versuchen eine Zeit von etwa 1/2 - 3/4 Stunde.

Zunächst wurden von den Hoden Epiorchium und Nebenhoden abpraepariert. Die Untersuchungen bei Bullenhoden schließen - da sich infolge der Größe der Organe mit absoluter Sicherheit praeparieren lässt - die Fehlerquellen bei Mäusen und Ratten aus, bei denen bei fehlerhafter Praeparation Nebenhodenspermatozoen in seltenen Fällen in die Ausschwemmung gelangen können.

Sodann wurden die Hoden unter fließendem Wasser eine halbe Minute abgespült, mit aqua dest. nochmals nachgespült, worauf der betreffende Hoden durch einen T-Schnitt mit einer Schere aufgeschnitten wurde. Es war nun möglich, Stücke des Hodenparenchyms mit der Schere abzuschneiden und zur weiteren Untersuchung herauszunehmen. Vom Hodenparenchym wurde jeweils 1 g Substanz abgewogen und in die dafür vorgesehene Menge der Ausschwemmungsflüssigkeit gebracht, welche zuvor in kleine Petrischälchen pipettiert wurde.

Unter Einhaltung einer konstanten Zahl von Scherenschnitten (100) wurde das Hodenstück einer mechanischen Zerkleinerung unterworfen. Sodann erfolgte eine möglichst weitgehende Trennung des zerkleinerten Hodenparenchyms von den ausgeschwemmten Spermatozoen mittels Filtration durch ein doppelt liegendes Stück Mullgaze, welches über einen kleinen Glastrichter gestülpt war. Auf diese Weise wurde eine Suspension von Hodenspermatozoen erhalten, die in kleinen Glasröhrchen bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurde, die zur Zeit der Versuche 21° bis 23° C betrug. Zur jeweiligen mikroskopischen Untersuchung wurde in die Röhrchen ein chemisch gereinigter Glasstab gebracht, mit dessen Hilfe nach Umschüttelung des Reagenzglases ein bzw. zwei Tropfen der Aufschwemmung auf einen Objektträger gebracht wurden, welche mit einem Deckgläschen abgedeckt wurden. Diese Nativpraeparate wurden unter dem Mikroskop bei 450-facher Vergrößerung untersucht. Bei jeder Ablesung wurde der jeweils in der Suspension vorhandene pH-Wert bestimmt. Für die Versuche der Abklatsch-Praeparate wurde ein Stückchen Hodenparenchyn kurz auf einen Objektträger gedrückt und die zurückgebliebene Flüssigkeitsmenge mit einem Deckgläschen bedeckt, worauf die mikroskopische Untersuchung vorgenommen werden konnte. Es wurden jeweils insgesamt 50 Spermatozoen ausgezählt, das gefundene Verhältnis von beweglichen zu unbeweglichen Spermatozoen mit 2 multipliziert, ergab die gesuchte Prozentzahl. Die verwendeten isotonischen Lösungen der verschiedenen Salze für die Ausschwemmungsflüssigkeit wurden teils nach den G e i g y - Tabellen und teils nach der Formel für die Gefrierpunktserniedrigung errechnet:

$$\triangle = n \cdot 1{,}86 \cdot \frac{G \cdot 1000}{M \cdot L}$$

wobei bedeuten:

n = Anzahl Ionen, in die der Elektrolyt beim Lösen zerfällt (bei Nicht-Elektrolyten = 1)
G = Gewicht des gelösten Stoffes
M = Molekulargewicht
L = Gewicht des Lösungsmittels und des gelösten Stoffes.

Zur Vitalitätsprüfung der in NH_4Cl-Lösung ausgeschwemmten Hodenspermatozoen wurde die von H e i n k e angegebene Deckgläschen-Färbemethode (Eosintest) angewandt. Bei dieser Färbung bleiben die lebensfähigen "vitalen" Spermatozoen ungefärbt, während die toten Spermatozoen infolge Veränderung der Zellmembran die Farbe aufnehmen und sich rot färben. Wie H e i n k e angibt, berichtete nach Angaben von G o e t z e M o r o s o w über eine Differenzierungsmöglichkeit von toten und lebenden tierischen Spermatozoen durch 5%ige Eosinfärbung. B l o m hatte die Methode modifiziert und B o g u t h (cit. nach H e i n k e) weiter verbessert. H e i n k e schreibt, es hätte den Anschein, daß Bullensperma empfindlicher als menschliches Sperma ist, und er schlägt daher vor, dasselbe nicht mit 5%iger, sondern mit 1%iger Eosinlösung anzufärben. Die Untersuchungen wurden daher mit 1%iger Eosinlösung durchgeführt in der Weise, daß auf einen Objektträger drei Tropfen der Hodenspermatozoenausschwemmung gebracht wurden, dazu zwei Tropfen Eosinlösung der angegebenen Konzentration. Die Tropfen wurden mit einem Glasstäbchen vermischt und mit einem Deckgläschen bedeckt. Der ganze Vorgang nimmt nur wenige Sekunden in Anspruch. Die Untersuchungen unter dem Mikroskop erfolgten sofort.

3.) Fehlerquellen

Bei der Anwendung oben beschriebener Methodik mussten bei den Untersuchungen der Motilität der Spermatozoen folgende Fehlerquellen berücksichtigt werden, die D o e p f m e r in seinen Untersuchungen angab:

a) Der Verdacht auf angeborene oder erworbene Störungen der Spermatogenese oder sonstige pathologische Veränderungen der Hoden konnte in der überwiegenden Mehrzahl bereits bei der makroskopischen Betrachtung der zu untersuchenden Bullenhoden auf Grund des Aussehens und der Größe der Testes gestellt werden. Um diese krankhaft veränderten Hoden auszuschließen, wurden alle die Hoden aus den Untersuchungsreihen eliminiert, bei denen sich in einem sog. Abklatsch-Praeparat bei der

mikroskopischen Vergrößerung von 1:450 im Blickfeld weniger als durchschnittlich 4 - 10 Spermatozoen zeigten. Von den in Frage kommenden Hoden wurde ein histologisches Praeparat angefertigt, das den Verdacht bestätigte, resp. erhärtete. Auf diese Weise konnte bei 100 untersuchten Bullen 4 mal eine Oligospermie festgestellt werden. Mit Hilfe der mikroskopischen Ausstrich-Praeparatprüfung und der histologischen Untersuchung konnten Tiere mit pathologischen Hodenveränderungen aus den Versuchsreihen eliminiert werden und extreme Schwankungen der gefunden Resultate vermieden werden.

b.) Gewichtsschwankungen der Bullen und verschiedenes Alter, die unberücksichtigt blieben.

c.) Mögliche Veränderungen der Spermatogenese, die durch verschiedenartige Fütterung und durch unterschiedliche Stalltemperatur hervorgerufen wurden.

d.) Die Schwankungen der Zimmertemperaturen, die bei der Anstellung der Versuche etwa $\pm$ 3° C betrugen.

e.) Die Differenz zwischen der Temperatur der Hodensuspensionen während der Aufbewahrung (Zimmertemperatur) und der Temperatur der Suspension bei der Ablesung auf dem Objektträger während der mikroskopischen Untersuchung.

f.) Geringgradige Temperaturschwankungen, die bei der Aufbewahrung bei Zimmertemperatur unvermeidbar waren und die durch die Untersuchung auf dem Mikroskopiertisch auftraten.

g.) Zellen der Samenreifungsreihe und sonstige Zellen sowie Zelltrümmer, die sich durch die angewandte Methodik nicht aus den Ausschwemmungen fernhalten ließen. Dadurch waren oft Spermatozoen mit jenen verklebt oder schienen festgekeilt. Eine Beurteilung der Qualität war deshalb nicht möglich.

h.) Bei einigen Lösungen trat eine mehr oder weniger starke Agglutination der Spermatozoen ein, indem verschiedene, zwei oder mehrere Spermatozoen, mit den Köpfen zusammenhingen. Es kam zur

Bildung sternförmiger Figuren, was schon M i l o v a n o v und S e l i v a n o v a (cit. nach A n d e r s o n) beschrieben. Dadurch wurde eventuell die Beweglichkeit beeinflusst, weil beobachtet wurde, daß einerseits diese konglomerierten Spermatozoen sehr lebhafte Schwanzbewegungen ausführten, andererseits die Bewegung stark herabgesetzt wurde. Solche Spermatozoen schieden für die Beurteilung aus.

i.) Zeitliche Differenzen beim Ablesen, welche bei der Aufbereitung der Spermatozoen-Suspensionen (von der Zerkleinerung der Hodenausschwemmung und Filtration der Hodenpartikel einerseits und der mikroskopischen Untersuchung andererseits) auftraten, konnten besonders bei der gleichzeitigen Untersuchung größerer Untersuchungsreihen von Spermatozoen-Suspensionen nicht vermieden werden.

k.) Bei denjenigen Versuchsreihen, die nach mehreren Stunden und Tagen abgelesen wurden, war die Bewegung möglicherweise beeinträchtigt worden durch Bakterien und Fäulnis- oder Gärungsprodukte. Insbesondere trat die Bildung von H_2S (am Geruch feststellbar) regelmäßig ein, und ebenso war eine oft sehr starke Verunreinigung durch zahlreiche bewegliche und unbewegliche Bakterien festzustellen.

4.) Untersuchungsergebnisse in Bezug auf:

a.) Verhältnis der normalen Spermatozoen zu Spermatozoen ohne Kopf in der Suspension

Bei der Anwendung oben beschriebener Methodik fanden sich in den Nativpraeparaten auch Spermatozoen ohne Kopf. Wie beobachtet werden konnte, bewegten sich solche Verbindungs- und Schwanzstücke zum Teil sehr lebhaft.

Wurde 1 g Hodenparenchym in 5 ccm isotonischer NH_4Cl-Lösung ausgeschwemmt, so ergab sich folgendes Verhältnis von normalen Spermatozoen zu Verbindungs- bzw. Schwanzstücken:

Bulle	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Normale Spermatozoen %:	86	90	88	98	90	94	80	97	82	92
Verbindungs- bzw. Schwanz- stücke %:	14	10	12	2	10	6	20	3	18	8

(Temp. 22° C, pH-Wert der Suspension = 6,2)

Durchschnittsverhältnis

Normale Spermatozoen : Verbindungs- oder Schwanzstücke (Spermatozoen ohne Köpfe)

90,7 % : 9,3 %

b) Verhältnis von Hodenspermatozoen mit Protoplasmatropfen zu Hodenspermatozoen ohne Protoplasmatropfen

Untersucht wurden insgesamt 22 verschiedene Bullen. In einer Suspension von 1 g Hodenparenchym in 5 ccm isotonischer NH_4Cl-Lösung besaßen durchschnittlich 47,8 % der Spermatozoen einen Protoplasmatropfen am Vorderende des Verbindungsstücks, der zuweilen größere, manchmal etwas kleinere Ausmaße aufwies.

Bulle	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Spermat. mit Proto- plasmatr. %:	58	50	48	56	50	54	54	56	50	46	52
Spermat. ohne Proto- plasmatr. %:	42	50	52	44	50	46	46	44	50	54	48

(Temp. 22° C, pH-Wert der Suspension = 6,2)

Bulle	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
Spermat. mit Protoplasmatr. %:	44	38	50	42	44	40	52	44	48	40	36
Spermat. ohne Protoplasmatr. %:	56	62	50	58	56	60	48	56	52	60	64

(Temp. 22° C, pH-Wert der Suspension = 6,2)

Durchschnittsverhältnis

Spermatozoen mit Protoplasmatropfen	:	Spermatozoen ohne Protoplasmatropfen
47,8 %	:	52,2 %

c) die Morphologie der Hodenspermatozoen

Die Beurteilung der Morphologie der Hoden- und Nebenhodenspermatozoen gestaltete sich deshalb schwierig, weil die Spermatozoen sehr oft durch Zellen der Samenreifungsreihe oder andere Zellen überdeckt waren und wegen der oft geringen Anzahl von Spermatozoen, insbesondere bei den Ausstrichpraeparaten.

Für die morphologische Differenzierung wurden folgende Färbungen angewandt:

1. Anfärben mit 1%iger Eosinlösung und Abdeckung mit einem Deckgläschen. Diese Praeparate wurden gleichzeitig für den Eosintest verwendet.
2. Dreiminutiges Färben des lufttrockenen Ausstriches mit Gentianaviolett und mikroskopische Untersuchung mit Ölimmersion.

Die gleiche Morphologie wie Nebenhodenspermatozoen zeigten unter den ausgeschwemmten Hodenspermatozoen nur 31 %, während bei 46 % der Hodenspermatozoen die Köpfe sowohl der Länge als

auch der Breite nach etwas größer und voluminöser waren. Auch ließen sich bei den Hodenspermatozoen auffallend viele pathologisch veränderte Formen beobachten. Insgesamt wurden von 5 verschiedenen Tieren von Hoden und Nebenhoden jeweils 500 Spermatozoen ausgezählt.

Nebenhodenspermatozoen:

Morphol. der Spermatozoen %:	Bulle 1	2	3	4	5
birnenförmig (normal) %:	77	82	84	75	72
birnenförmig (vergr.Köpfe) %:	12	10	11	13	14
kleine Köpfe %:	6	6	5	5	13
pathologisch veränd.Formen %:	5	2	0	7	1

Hodenspermatozoen:

Morphol. der Spermatozoen	Bulle 1	2	3	4	5
birnenförmig (normal) %:	32	28	36	27	32
birnenförmig (vergr.Köpfe) %:	48	50	49	40	43
kleine Köpfe %:	0	0	0	0	0
Pathologisch veränd.Formen %:	20	22	15	33	25

Berücksichtigt wurden bei der Differenzierung nur morphologisch ausgereifte Spermatozoen; Vorstufen der Spermatozoen wurden nicht berücksichtigt. Die nachfolgende Tabelle zeigt die durchschnittlichen Ergebnisse der Untersuchungen über die Morphologie der Nebenhoden- und Hodenspermatozoen bei Bullen:

Morphologie der Spermatozoen	birnenförmig (normal)	birnenförmig (vergr.Köpfe)	kleine Köpfe	patholog. veränd.Formen
Nebenhoden-spermatozoen %	78	12	7	3
Hoden-spermatozoen %	31	46	0	23

5) Besprechung der Ergebnisse hinsichtlich der Motilität bei Hodenspermatozoen

A) Hodenabklatsch-Praeparate

Die Untersuchungen über die Bewegung der Hodenspermatozoen zeigten, daß in einem sog. Abklatschpraeparat, das ist ein Nativpraeparat mit Ausstrichen von der aufgeschnittenen Hodenparenchymfläche auf den Objektträger, entweder gar keine Bewegung der Spermatzoen festzustellen ist oder nur eine Quantität der Bewegung von höchstens 8 - 10 % und eine Qualität der Stufe 1 (±) in dem unverdünnten Hodensekret.

b) Bewegung in Ringer-, Locke-, physiologischer NaCl- und isotonischer NH_4Cl-Lösung

Wurde jeweils 1 g Substanz des Hodenparenchyms in 5 ccm der obengenannten Lösungen ausgeschwemmt - die erwähnten Lösungen werden von verschiedenen Autoren als stimmulierendes Verdünnungsmedium für Ejakulat-Untersuchungen benützt - so ergibt sich hinsichtlich der ermittelten Durchschnittswerte der Quantität und Qualität der Bewegung im Vergleich zu der von D o e p f m e r gefundenen günstigen Wirkung der isotonischen NH_4Cl-Lösung auf Hodenspermatozoen die umseitig aufgeführte Tabelle. Die Durchschnittswerte für die gebräuchlichen Lösungen wurden jeweils aus den entsprechenden Einzelwerten von 8 - 12 verschiedenen Bullen errechnet, die Durchschnittswerte für NH_4Cl-Lösung aus 71 Bullen.

Zeit (Std.)	Ringer		Locke		Physiol. NaCl		Isot. NH_4Cl	
	Quant.	Qual.	Quant.	Qual.	Quant.	Qual.	Quant.	Qual.
20'	56,00 %	3,90	45,83 %	3,75	45,00 %	2,50	63,30 %	5,57
6	49,25 %	3,75	31,66 %	2,75	24,00 %	2,00	51,50 %	4,81
12	42,75 %	3,25	23,50 %	2,33	18,00 %	1,12	33,20 %	3,43
24	39,00 %	3,13	13,00 %	1,17	6,00 %	1,02	20,00 %	1,83
48	0	0	0	0	0	0	4,00 %	0,63
72	0	0	0	0	0	0	0	0

Bei der graphischen Darstellung der ermittelten Untersuchungswerte ergeben sich die Abbildungen 1 und 2.

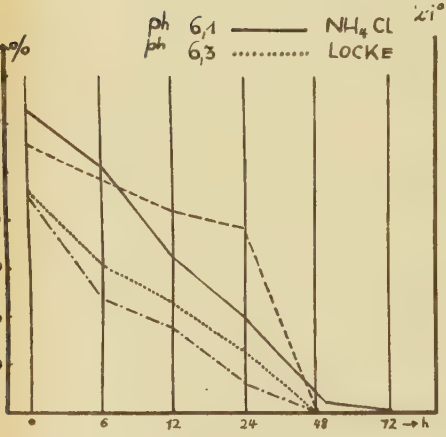

Abb. 1: Einfluß von Ringer-, Locke-, phys. NaCl- und isot. NH_4Cl auf die Quantität der Bewegung.

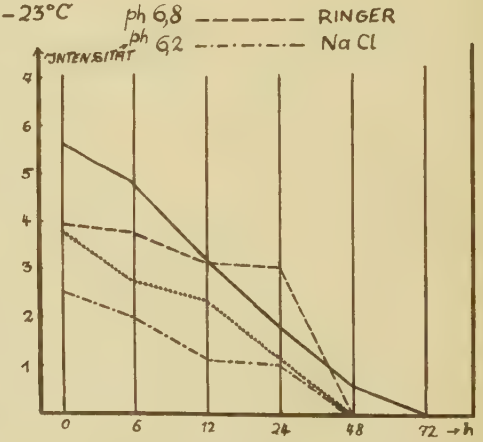

Abb. 2: Einfluß von Ringer-, Locke-, phys. NaCl- und isot. NH_4Cl-Lösung auf die Qualität der Bewegung.

Der Durchschnitt der Quantität der Bewegung bei Ringer, Locke und NaCl-Lösung lag anfangs bei 50 %, um im Laufe der Zeit entsprechend abzufallen. Die Qualität der Bewegung aber erreichte nie, auch anfangs in Einzelfällen nicht, eine höhere Stufe als 4.

c) Streuungsbreite der Bewegung in NH_4Cl-Lösung

An einer größeren Versuchsreihe mit 71 Bullen wurde die stets sich zeigende, günstige Wirkung der isotonischen NH_4Cl-Lösung auf die Hodenspermatozoen in der Abb. 3 dargestellt. Die aufgezeichnete Streuungsbreite war außer den oben beschriebenen Fehlerquellen offenbar individuelleren Faktoren zuzuschreiben, da sie sich trotz Einhaltung gleicher Versuchsanordnungen und der Ausschaltung von Untersuchungsmaterial mit pathologisch veränderter Spermatogenese nicht vermeiden ließ.

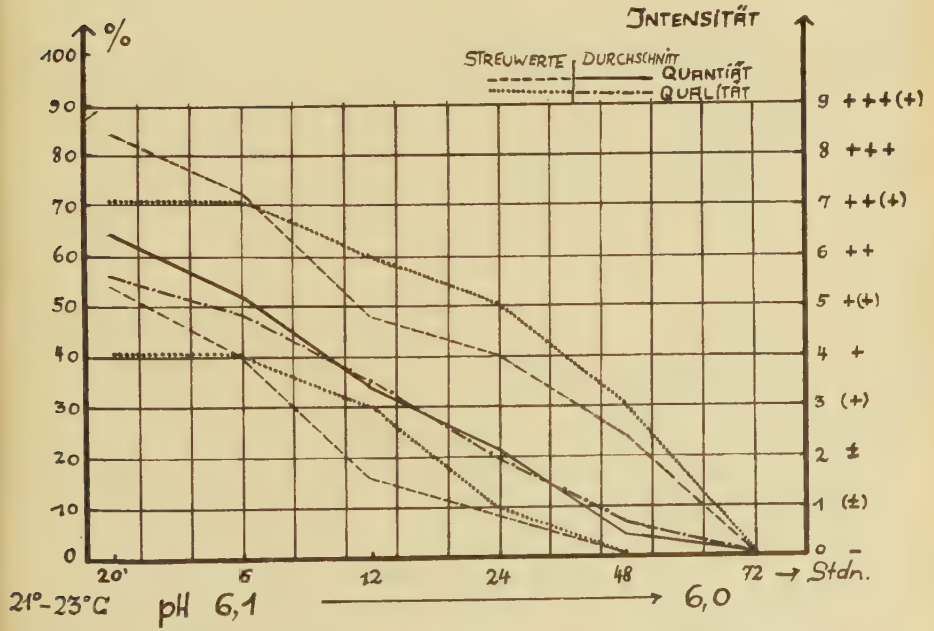

Abb. 3: Durchschnittsquantität und -qualität sowie Streuungsbreite der Bewegung der Spermatozoen in isotonischer NH_4Cl-Lösung.

Die Bewegung ließ sich mit isotonischer NH_4Cl-Lösung über zwei Tage erhalten, wenn auch nach Ablauf dieser Zeit die

Quantität auf durchschnittlich 4 % und die Qualität bis zur Stufe 1(3)abgesunken war. Dies konnte bei den oben angeführten Lösungen nicht beobachtet werden. Ebenso war die Initialmotilität gegenüber den angeführten Lösungen wesentlich verbessert. Es konnte oft eine Qualität bis zu Stufe 7 und eine Quantität von durchschnittlich 63 % beobachtet werden.

Für die Ausschwemmung wurden auch hier wie für alle weiteren Untersuchungen 5 ccm der Ausschwemmungsflüssigkeit auf 1 g Hodenparenchym verwendet.

d) Bewegung bei NH_4Cl-Glukose, -Fruktose, -Serum und NH_4Cl - NaCl - $NaHCO_3$

Eine weitere Versuchsreihe galt der Frage, ob durch Kombination der isotonischen NH_4Cl-Lösung mit anderen Lösungen eine Ausschwemmungsflüssigkeit gefunden werden kann, durch die eine Verbesserung der Ergebnisse hinsichtlich der Motilität der Hodenspermatozoen zu erhalten ist. Es wurden 4 Lösungs-Kombinationen untersucht, und zwar

1. NH_4Cl - Glukose
2. NH_4Cl - Fruktose
3. NH_4Cl - Serum
4. NH_4Cl - NaCl - $NaHCO_3$

Die Ausschwemmungsflüssigkeiten setzten sich aus jeweils gleichen Anteilen der für die Kombination angegebenen isotonischen Lösungen zusammen, in der Weise, daß sich für die Ausschwemmung von 1 g Hodenparenchym wiederum insgesamt 5 ccm ergaben. Die Ergebnisse der betreffenden Untersuchungen sind in den Abb. 4 und 5 dargestellt. Es handelt sich um Durchschnittswerte von jeweils 10 - 12 Bullen. Wie aus diesen beiden Abbildungen ersichtlich ist, lässt sich die Quantität und Qualität der Bewegung und auch die Bewegungsdauer durch Kombination der NH_4Cl-Lösung mit anderen Lösungen nicht verbessern. Lediglich bei der Ausschwemmung der Spermatozoen mit dem Gemisch NH_4Cl - NaCl - $NaHCO_3$ ist die Initialmotilität gegenüber NH_4Cl allein erhöht, die Bewegungsdauer jedoch wesentlich verkürzt.

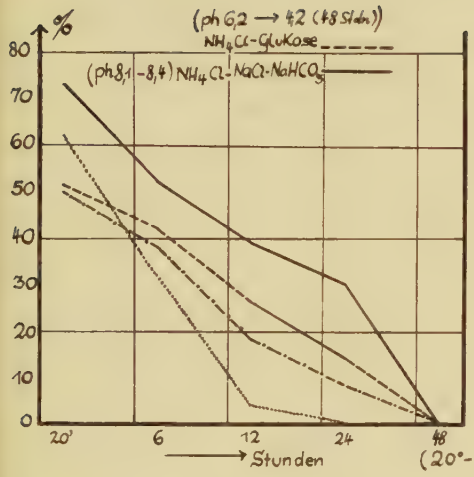

Abb. 4: Einfluß von NH_4Cl-Glukose, -Fruktose, -Serum und NH_4Cl-NaCl-$NaHCO_3$ auf die Bewegungsquantität

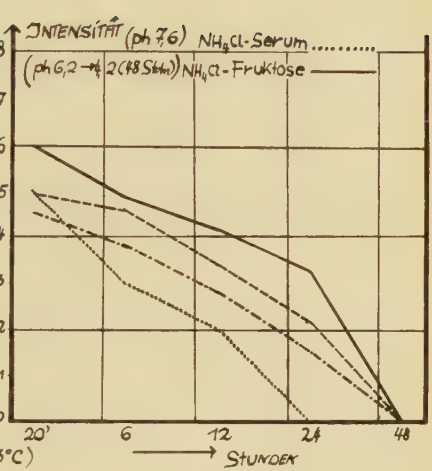

Abb. 5: Einfluß von NH_4Cl-Glukose, -Fruktose, -Serum und NH_4Cl-NaCl-$NaHCO_3$ auf die Bewegungsqualität

e) **Bewegung bei $NaHCO_3$ - NaOH - Na_3PO_4**

Die von R e d e n z beschriebene Steigerung der Qualität der Bewegung von Hodenspermatozoen aus dem Rete testis und der Peripherie, welche er durch Zusätze von $NaHCO_3$-NaOH-Na_3PO_4 und Pufferlösungen erzielte, und die derjenigen von Nebenhodenspermatozoen bei geringer Verdünnung nicht nachstehen soll, konnte bei den Untersuchungen an Bullenhodenspermatozoen von 10 verschiedenen Tieren reproduziert werden. Bei der Ausschwemmung des mittels der beschriebenen Methodik zerkleinerten Hodenparenchyms mit einem Gemisch der oben angeführten Reagenzien in isotonischer Lösung, zeigte sich, daß die Suspension eine zähe, fadenziehende visköse Konsistenz annahm. Für die Versuche wurden jeweils auf 1 g Parenchym 4 ccm $NaHCO_3$, 0,5 ccm NaOH und 0,5 ccm Na_3PO_4 genommen. Der mittels Indikatorpapier gemessene pH-Wert lag zwischen 9,5 und 10,2.

Bei der anschließenden mikroskopischen Untersuchung zeigte sich, daß die Spermatozoen eine Bewegungsquantität bis zu 94 % und eine -qualität der Stufe 8 (9) aufwiesen. Diese Bewegungsintensität war jedoch nur von ganz kurzer Dauer, und nach längstens 1 Stunde sistierte die Bewegung der Spermatozoen in der Suspension, wahrscheinlich infolge des auf sie ausgeübten starken toxischen Reizes.

Bei Zusatz gleicher Teile $NaHOC_3$, NaOH und Na_3PO_4 zu dem zerkleinerten Hodenparenchym wurde die Suspension zu dickflüssig, wobei eine Bewegung dann nicht ablesbar war.

Ferner konnte beobachtet werden, daß nach etwa 1 Stunde in den mikroskopischen Praeparaten auffallend viele Spermatozoenschwänze, im Gegensatz zu den sofort nach der Ausschwemmung angefertigten Praeparaten, zu finden waren. Dies lässt ebenfalls auf eine stark toxische Wirkung dieser Ausschwemmungsflüssigkeit schließen.

f) Bewegung bei verschiedenem pH-Wert

In der Abbildung 6 wird der Einfluß verschiedener pH-Werte auf die Qualität und Quantität der Bewegung bei Bullenhodenspermatozoen dargestellt. Es zeigte sich, daß im Bereiche dieser pH-Werte nur unwesentliche Schwankungen der Bewegungsquantität und -qualität zu erwarten sind. Im Bereiche des pH-Wertes von 7 gehen die Durchschnittswerte hinsichtlich der Motilität etwas zurück, um bei einem pH-Wert von 8 wieder anzusteigen; die Quantität der Bewegung geht jedoch bei einem pH-Wert von 9 wiederum zurück.

Die Ergebnisse der Abbildung 6 stellen Durchschnittswerte von Untersuchungen an 12 verschiedenen Bullen dar.

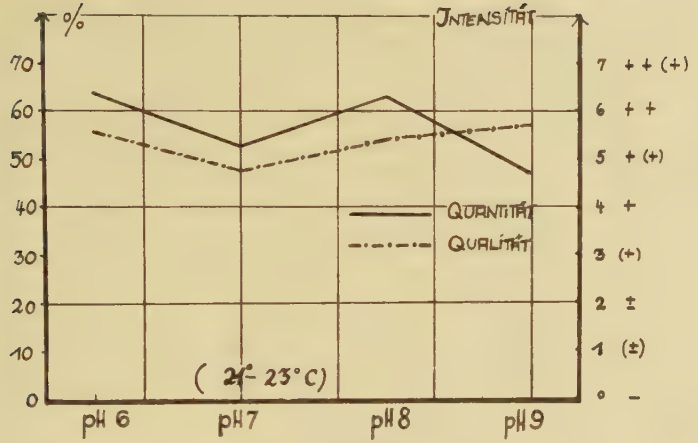

Abb. 6: Einfluß verschiedener pH-Werte einer isotonischen NH_4Cl-Lösung auf die Initialmotilität bei Bullenhodenspermatozoen.

g) Bewegung bei Zimmer- und Körpertemperatur

In Abbildung 7 wird bei vergleichenden Untersuchungen die Dauer der Bewegung sowie der Quantitäts- und Qualitätsgrad der Bewegung von Bullenhodenspermatozoen bei Zimmer- und bei Körpertemperatur dargestellt. Dabei zeigte sich, daß nach anfänglicher geringgradiger und kurzfristiger Steigerung der Quantität und Qualität der Bewegung der bei Körpertemperatur aufbewahrten Spermatozoen sowohl Quantität, Qualität und Bewegungsdauer wesentlich schlechter waren, als bei solchen Spermatozoen, die bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurden.

h) Bewegung bei verschiedenen Mengen von Ausschwemmungsflüssigkeit

Abbildung 8 zeigt den Einfluß verschiedener Mengen von Ausschwemmungsflüssigkeit (isotonische NH_4Cl-Lösung) auf die Qualität und Quantität der Bewegung bei Bullenhodenspermatozoen. Wie aus der Abbildung 8 ersichtlich ist, wird die Qualität der Bewegung weniger als die Quantität durch unter-

schiedliche Mengen der Ausschwemmungsflüssigkeiten, die zwischen 2 und 20 ccm lagen, verändert. Die beste Motilität ist vorhanden, wenn 1 g Hodenparenchym in 5 ccm ausgeschwemmt wird.

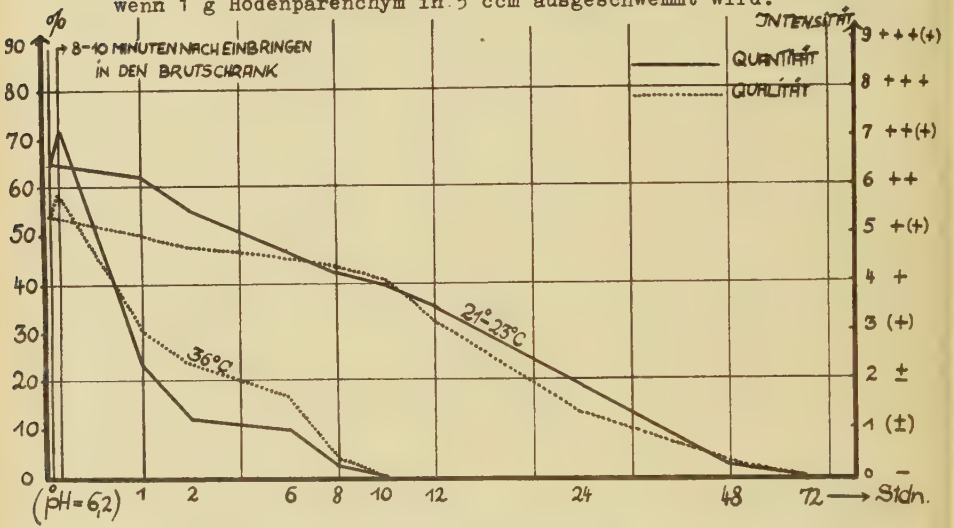

Abb. 7: Einfluß von Zimmer- und Körpertemperatur auf die Quantität, Qualität und Dauer der Bewegung bei Bullenhodenspermatozoen in isotonischer NH_4Cl-Lösung.

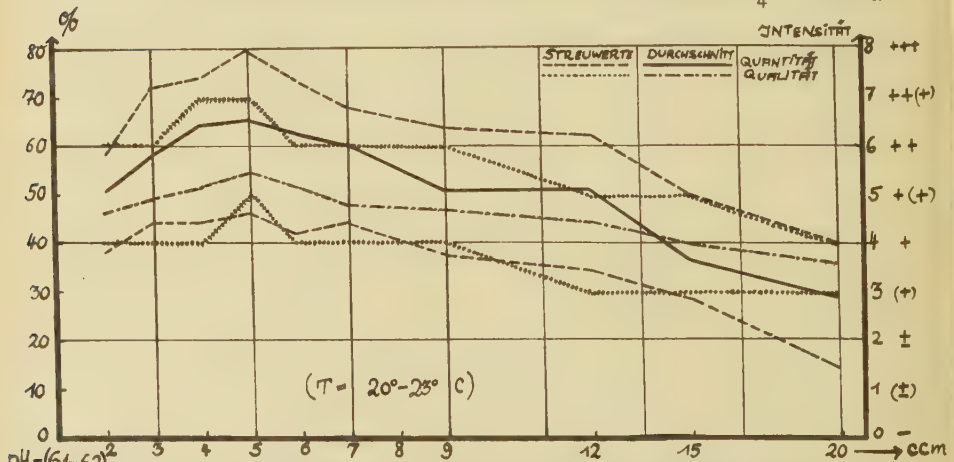

Abb. 8: Einfluß versch. Ausschwemmungsflüssigkeitsmengen auf Quantität und Qualität der Bewegung in isotonischer NH_4Cl-Lösung bei Bullenhodenspermatozoen.

Ebenso wie bei der Ermittlung des Einflusses der Körper- und Zimmertemperatur auf die Motilität der Spermatozoen wurden bei der Ermittlung des Einflusses von verschiedenen Ausschwemmungsflüssigkeiten auf die Motilität jeweils 20 Tiere für die Untersuchungen herangezogen.

Abbildung 8 gibt neben den Durchschnittswerten der Bewegungsquantität und -qualität der Hodenspermatozoen gleichzeitig die Streuungswerte für Quantität und Qualität an.

i) Bewegung bei verschiedenem osmotischen Druck der Ausschwemmungsflüssigkeit

In der folgenden Tabelle sind die Ergebnisse hinsichtlich der Motilität der Spermatozoen bei verschiedenem osmotischen Druck des Ausschwemmungsmittels (NH_4Cl-Lösung) dargestellt:

Lösung	Quantität	Qualität
hypotonisch	7,5 %	1,3
isotonisch	58,5 %	5,35
hypertonisch	53,0 %	3,35

Es handelt sich um Durchschnittswerte von 20 verschiedenen Bullen. Der Gehalt an NH_4Cl pro Liter der betreffenden Lösung betrug bei der

hypotonischen Lösung = 4,1 g
isotonischen Lösung = 8,2 g
hypertonischen Lösung = 16,4 g

Es zeigte sich, daß in isotonischer Lösung die Motilität am besten ist, in hypertonischer Lösung bezüglich der Quantität nur wenig, in Bezug auf die Qualität aber stark abfällt und in hypotonischer Lösung Quantität und Qualität der Bewegung auf ein Minimum zurückgeht.

6.) Vitalitätsuntersuchung (Eosintest) bei Hodenspermatozoen in isotonischer NH_4Cl-Lösung

In der Abbildung 9 ist der Prozentsatz der nicht-gefärbten Bullenhodenspermatozoen dem Prozentsatz der sich bewegenden Spermatozoen gegenüber gestellt.

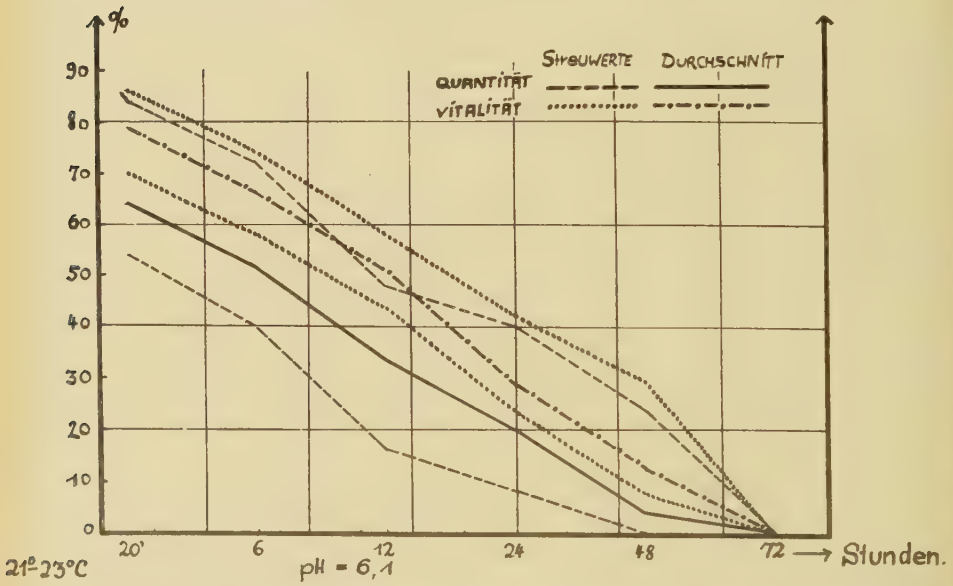

Abb. 9: Ergebnisse des Vitalitätstestes im Vergleich zur Quantität der Bewegung bei Bullenhodenspermatozoen in isotonischer NH_4Cl-Lösung.

Die Kurve stellt Durchschnittswerte von 20 verschiedenen Tieren dar; eingezeichnet sind ferner die Streuungsbreiten sowohl für den Prozentsatz an lebenden Spermatozoen wie für die Bewegungsquantität. Es zeigt sich, daß die Kurve der sich bewegenden und der nicht-gefärbten Spermatozoen weitgehend parallel verläuft, was nach D o e p f m e r auf die ungleich größere Empfindlichkeit der Hodenspermatozoen gegenüber Ejakulatspermatozoen in Bezug auf chemisch-physikalische Einflüsse zurückzuführen ist. Bei Ejakulatspermatozoen verläuft die Kurve der Bewegungsquantität und der Vitalität wegen der länger nachweisbaren Vitalität nicht parallel.

IX. Diskussion

In der Literatur finden sich nur ganz wenige Angaben über die Motilität von Hodenspermatozoen. Bei entsprechenden Untersuchungen über die Beweglichkeit von Hodenspermatozoen fanden M e t t e n l e i t e r und W a l k e r keine Bewegung, R e d e n z, B e l o n o s c h k i n und Y o u n g (cit. nach D o e p f m e r) nur sehr kurzdauernde Bewegungen von geringer Intensität. B e l o n o s c h k i n konnte bei in physiologischer NaCl-Lösung ausgeschwemmten Hodenspermatozoen nur eine Bewegungsdauer bis zu 3 Stunden beobachten, Y o u n g, der in seinen Untersuchungen Bullenhodenspermatozoen in L o c k e 'scher Lösung aufgeschwemmt hatte, stellte lediglich schwächste oszillatorische Bewegung des Schwanzes ohne Vorwärtsbewegung fest. Diese Beobachtung kann durch die eigenen Untersuchungen bestätigt werden. R e d e n z fand, daß die Dauer der Bewegung bei Hodenspermatozoen bei Bullen, Hunden und Meerschweinchen sowohl im Rete testis als auch in der Peripherie der Testes sich längstens über 2 Stunden erstreckte. Eine kurzdauernde, intensive Bewegung wie bei Nebenhodenschweifspermatozoen konnte er durch Zusatz von $NaHCO_3$, NaOH, Na_3PO_4 und Pufferlösungen erzielen. Durch eigene Untersuchungen von 12 verschiedenen Bullen konnte ebenfalls eine Qualität der Bewegung bei Bullenhodenspermatozoen erzielt werden, die der von Nebenhodenspermatozoen nahe kam. Die Bewegung von dieser Intensität hielt aber nur sehr kurze Zeit an und war nach 1 Stunde infolge der toxischen Wirkung dieses Ausschwemmungsmittels vollständig erloschen.

Eine gute Motilität stellt wohl einen sehr wichtigen Faktor, doch keinen ausschließlichen Maßstab für die Befruchtungsfähigkeit dar, da sich weitere wichtige Kriterien in der Zahl und der Morphologie der Spermatozoen ergeben. Nach Mac L e o d und G o l d wurden die unteren Grenzwerte für diese angeführten Kriterien von den meisten Autoren bisher als zu hoch angegeben, insbesondere ist die untere Grenze einer ausreichenden Befruchtungsfähigkeit hinsichtlich des Prozentsatzes an beweglichen Zellen bei 40 % zu suchen, einer Zahl, die nicht sehr hoch erscheint.

Die meisten Seminologen stimmen jedoch darin überein, daß ohne Bewegung der Spermatozoen keine Befruchtung möglich ist. Besonders der Qualität der Bewegung wird eine große Bedeutung beigemessen, weil wahrscheinlich ein Weg von 15 - 18 cm durch die Eigenbewegung der Spermatozoen zurückgelegt werden muß; diese Leistung entspräche nach K n a u s einer solchen, welche das Durchlaufen einer 36 km langen Strecke in 1.1/2 bis 2 Stunden von einem erwachsenen Menschen darstellt.

Bei der angewendeten Methodik fanden sich in den Suspensionen der Hodenspermatozoen 9,3 % Spermatozoen ohne Köpfe; ein Protoplasmatropfen konnte in durchschnittlich 47,8 % der Hodenspermatozoen beobachtet werden, dessen Funktion nach K n a u s nicht bekannt ist und ein Merkmal darstellen soll, aus welchem Ort die Samenzelle entnommen ist. In 46 % der Fälle zeigten sich bei Bullenhodenspermatozoen eine Vergrößerung der Köpfe; D o e p f m e r konnte bei Meerschweinchenhodenspermatozoen eine Vergrößerung des Kopfes in 30 - 40 % nachweisen.

Bei den eigenen experimentellen Untersuchungen fanden sich die Hodenspermatozoen so lange bewegungslos oder nur zu einem ganz kleinen Prozentsatz und mit geringer Intensität beweglich, bis sie mit der Ausschwemmungsflüssigkeit, einer elektrolythaltigen Lösung in Berührung kamen. Bei der Verwendung von Ringer-, Locke- und physiologischer NaCl-Lösung ließ sich die Quantität der Bewegung zwar teilweise bis zu 70 % steigern, die Qualität der Bewegung erreichte aber nie eine höhere Stufe als 4 nach der von D o e p f m e r aufgestellten Gradeinteilung der Bewegungsintensität für Hodenspermatozoen. Wurden die Spermatozoen dagegen in isotonischer NH_4Cl-Lösung ausgeschwemmt, so ließen sich sowohl Qualität und Quantität der Bewegung wesentlich verbessern, wobei die Quantität bis zu 84 %, die Qualität die Stufe 7 erreichte. Außerdem konnte bei der Anwendung dieser Ausschwemmungsflüssigkeit die Bewegungsdauer wesentlich verlängert werden. So konnte nach 48 Stunden noch eine durchschnittliche Quantität der Bewegung von 4 % beobachtet werden, wobei allerdings die Qualität bis zur Stufe 1 abgesunken war.

Durch Kombination der isotonischen NH_4Cl-Lösung mit isotonischer NaCl- und $NaHCO_3$-Lösung gelang es zwar, die Durchschnittswerte der Bewegung bezüglich Quantität und Qualität etwas zu steigern, die Bewegungsdauer aber war verkürzt. Kombination mit Glukose, Fruktose und Serum ergab keine Verbesserung der gefundenen Werte gegenüber NH_4Cl-Lösung allein. Es ist nach D o e p f m e r zu vermuten, daß NH_4-Ionen den fermentativen Hemmungsmechanismus der Hodenspermatozoen beseitigen und die gehemmte Bewegung der Hodenspermatozoen vorzeitig aufheben können, wobei die Qualität der Bewegung imstande ist, sich zu einem intensiven Grad zu steigern. Damit ist eindeutig der entscheidende Einfluß der Ionen des umgebenden Milieus, vor allem auf die Qualität der Bewegung, bewiesen und die Auffassung von R e d e n z, der die Auslösung der Bewegung in erster Linie in einer Verschiebung des pH-Wertes sah, widerlegt.

Wie die Untersuchungen an Bullenhodenspermatozoen weiter zeigten, hat eine Verschiebung des pH-Wertes nur eine relativ geringe Steigerung der Bewegung zur Folge; eine Erhöhung der Temperatur auf 35° C erweist sich für die Bewegungsquantität und -qualität nur für ganz kurze Zeit als vorteilhaft. Es zeigte sich, daß schon nach 1 Stunde die Motilität gegenüber denbei 22° C aufbewahrten Spermatozoen sehr stark abgesunken war und nach 10 Stunden bereits vollständig aufgehört hatte.

Die Bewegung kann, wie aus einer weiteren Untersuchungsreihe ermittelt wurde, in geringem Maße auch durch Veränderungen der Menge der Ausschwemmungsflüssigkeit beeinflusst werden. Es stellte sich heraus, daß 5 ccm Ausschwemmungsflüssigkeit auf 1 g Hodenparenchym bei entsprechender Zerkleinerung das günstigste Verhältnis sowohl in Bezug auf die Quantität als auch auf die Qualität darstellen.

Die Untersuchungen weisen einer Verschiebung des pH-Wertes nach der alkalischen Seite, einer Temperaturerhöhung und einem bestimmten Verhältnis von Ausschwemmungsflüssigkeit zu Hodenparenchymmenge lediglich eine auxiliäre Bedeutung für die Motilität der Hodenspermatozoen zu. Wird für die Ausschwemmung kein

isotonisches Medium verwendet, so wird die Motilität nachteilig beeinflusst. Insbesondere geht aus einer betreffenden Untersuchungsreihe hervor, daß eine Hypotonie des Ausschwemmungsmittels Quantität und Qualität der Bewegung gegenüber einer isotonischen Lösung wesentlich verschlechtert.

Die Vitalitätsuntersuchung mit Hilfe des Eosintestes nach H e i n k e ergab, daß die Bewegungsquantität weitgehend parallel der Lebensdauer verläuft, die mit einer Nicht-Anfärbbarkeit der Spermatozoen gleichzusetzen ist. Allerdings lässt die Vitalität der Spermatozoen keine Rückschlüsse auf die Befruchtungsfähigkeit ziehen.

X. Zusammenfassung

Die vorliegenden eigenen Untersuchungen über die Motilität von Hodenspermatozoen bei Bullen wurden angestellt, um Analogieschlüsse für die Frage zu gewinnen, ob sich gegebenenfalls Hodenspermatozoen, die mittels Excision und nachfolgender Ausschwemmung gewonnen werden, für eine homologe, künstliche Insemination beim Menschen verwenden lassen, sofern ein nicht operabler Verschluß der samenabführenden Wege bei normaler Spermatogenese vorliegt.

Für die experimentellen Untersuchungen wurden die Hoden von 100 Bullen verwendet. Es konnten folgende Ergebnisse ermittelt werden:

1. Das durchschnittliche prozentuale Verhältnis von normalen Spermatozoen zu Spermatozoen ohne Köpfe in den Suspensionen der Hodenspermatozoen war 90,7 % : 9,3 %. Protoplasmatropfen wurden in durchschnittlich 47,8 % der Hodenspermatozoen gefunden.
2. Im Durchschnitt wiesen 46 % der Hodenspermatozoen vergrösserte Köpfe auf, während 31 % dieselbe Morphologie wie Nebenhodenspermatozoen zeigten.

3. In Hodenabklatsch-Praeparaten zeigten die Spermatozoen in einzelnen Fällen eine Quantität der Bewegung bis zu 10 %, die Qualität der Bewegung war aber sehr gering.

4. Durch Anwendung der für Ejakulatspermatozoen gebräuchlichen stimulierenden Lösungen wurde eine Steigerung der Bewegungsquantität von durchschnittlich 50 % erzielt; die Qualität der Bewegung war nie höher als Stufe 4.

5. Bewegungsquantität und -qualität wurden durch die Anwendung von isotonischer NH_4Cl-Lösung auf 63 % bzw. Stufe 7 verbessert. Auch die Bewegungsdauer erfuhr eine wesentliche Verlängerung.

6. Durch Kombination der NH_4Cl-Lösung mit isotonischer Glukose- und Fruktose-Lösung sowie Serum konnte keine weitere Verbesserung hinsichtlich der Motilität erzielt werden.

7. Durch eine Kombination isotonischer Lösungen von $NaHCO_3$-NaOH-Na_3PO_4 konnte bei den Hodenspermatozoen etwa die gleiche Bewegungsintensität wie bei Nebenhodenspermatozoen erzielt werden, die jedoch nur von kurzer Dauer war.

8. Eine Verschiebung des pH-Wertes nach der alkalischen Seite hatte keine wesentliche Verbesserung der Motilität zur Folge.

9. Durch Erhöhung der Temperatur konnte eine kurze Steigerung von Bewegungsquantität und -qualität erzielt werden, die Bewegungsdauer jedoch war wesentlich verkürzt.

10. Das Verhältnis von 5 ccm Ausschwemmungsflüssigkeit auf 1 g Hodenparenchym erwies sich sowohl in Bezug auf die Qualität wie Quantität der Bewegung als am günstigsten.

11. Hyper- und Hypotonie der Ausschwemmungsflüssigkeit hatten einen nachteiligen Einfluß auf die Motilität.

12. Bei den Untersuchungen auf die Vitalität der Hodenspermatozoen ergaben sich weitgehend parallel verlaufende Kurven bei der Bewegungsquantität und der Lebensdauerbestimmung.

Am Ende dieser Arbeit sei mir gestattet, Herrn Professor Dr. H. Schuermann meinen Dank auszusprechen für die großzügige Überlassung des Themas und die Erlaubnis, in der Klinik arbeiten zu dürfen.

Herrn Dr. R. Doepfmer möchte ich für die mir jederzeit bereitwillig gewährte Hilfe ebenfalls herzlichst danken.

XI. Literaturverzeichnis

A n d e r s o n, I.: The Semen of Animals and its use for Artificial Insemination. Imp. Bur. An. Breeding and Genetics. Edinburgh, 1945.

B e l o n o s c h k i n, B.: Zeugung beim Menschen Sjöberg, Stockholm, 1949.

B l o m, E.: A one minute live-dead sperm stain by means of Eosin-Nigrosin Fert. a. Ster. 1, 178, 1950

B o g u t h, W.: cit. nach Heinke

B o n n e t - P e t e r: cit. nach Weiss

B r e t s c h n e i d e r, L. H.: Das Elektronen-Mikroskop im Dienste der Viehzucht, Sonderdruck aus T. N. O., Gravenhage, 2, 147 - 150, 1947.

B r e w s t e r, I. E., M a y, R., C o l e, C. L.: Proc. Amer. Soc. Anim. Proc. 33, 304, 1940.

B u t e n a n d t, A.: Zur Biologie und Chemie der Sexualhormone. Naturwissenschaften 4, 1934; Hoppe-Seyler's Zeitschr. 216, 1933.

D i c k, W.: Hoden-Atrophie bei Störungen des scrotalen Wärmehaushaltes, Bruns Beitr. Klin. Chir. 165, 299, 1937.

D i c k, W.: Hoden-Physiologie und Chirurgie, Med. Klin. 1937, 1334 (Ausg. Prag-Wien).

D i c k, W.: Wärmeschädigung des menschl. Hodens im histologischen Bilde, Bruns Beitr. klin. Chir. 167, 71, 1938

Doepfmer, R.: Zur Kenntnis der Aspermie Habilitationsschrift, Würzburg 1955.

Falk, C., Kaufman, S. A.: Fertility and Sterility 1, 489, 1950.

Geigy, J. R.: Wissenschaftliche Tabellen, 1953.

Gellhorn, E.: Pflügers Arch. 185, 1920
193, 1922
196, 1922
200, 1923

Goetze, R.: Die Besamung und Unfruchtbarkeit bei Haussäugetieren, Schaper, Hannover, 9 - 77, 1949.

Gräfenberg, E.: Die zyklischen Schwankungen des Säuretiters im Scheidensekret, Arch. Gynäk. 108, 628, 1918.

Green, W. W., Winters, L. M.: The Time of Ovulation and Haste of Sperm Travel. Anat. Record, 61, 457, 1935.

Guggenberger, J.: Untersuchungen über die Lebensfähigkeit der menschl. Spermien in vitro, Monatschr. Geb. Gynäk. 59, 22, 1922.

Guizetty, P.: cit. nach Knaus.

Hart, C.: Beiträge zur biologischen Bedeutung der innersekretorischen Organe. Pflügers Arch. Physiol. 196, 127, 1922.

Heinke, E.: Vitalitäts-Prüfung von menschl. Spermien durch Eosinfärbung. Sonderdruck aus Zeitschr. H. u. G. Heft 6, 10, 1951

Höhne, O., Behne, K.: Über die Lebensdauer homologer und heterologer Spermatozoen im weiblichen Genitalapparat und in der Bauchhöhle. Zbl. Gynäk. 5, 1914.

Joel, C. A.: Studien am menschlichen Sperma. Beno Schwabe & Co., Basel 1953.

Knaus, H.: Die Physiologie der Zeugung des Menschen. Wien, Wilhelm Maudrich, 34 - 68, 1950.

Königstein, H.: Über das Schicksal der Spermatozoen, welche nicht zur Befruchtung gelangen. Wien, Klin. Wschr., 971, 1908.

Krischner, H.: cit. nach Knaus.

Kugota, T. T.: cit. nach Knaus.

Kurzrock, R.: cit. nach Knaus.

Lagerlöf, N.: Morpholog. Untersuchungen über Veränderungen im Spermabild und in den Hoden bei Bullen mit verminderter oder aufgehobener Fertilität. Acta Pathol. et Microbiol. Scand. Suppl. 19, 254, 1934.

Lanz von, T.: Zeitschrift für Anat. und Entwicklungsgeschichte. 74, 761, 1924.

Laves, W., Spath, F.: Über den Nachweis und die gerichtlich-medizinische Beurteilung der nicht indizierten Sterilisierung des Mannes. D. Zeitschr. ges. ger. Med. 24, 343, 1935.

Lipschitz, Hertwig, G.: Pflügers Arch., 191, 1921.

Loeb, J.: Die Eiweißkörper und die Theorie der kolloidalen Erscheinungen. Springer, 276, 1924.

Lotze, H.: cit. nach Knaus.

Marshall, F. H. A.: The Physiology of Reproduction. Longmans, Green & Co., 2nd Edition, 1922.

Mc Leod, J., Gold, R. Z.: J. of Urol. 66, 436, 1951.

Mc Leod, J., Gold, R. Z.: Fert. a. Ster. 2, 187 - 204 1951.

Mc Leod, J., Gold, R. Z.: Fert. a. Ster. 2, 394, 1952.

Mettenleiter, M.: Sperma und künstl. Befruchtung bei Mensch und Tier, Arch.f.Gynäk. Bd. 126, 1925

Miller, E. G.: cit. nach Knaus.

Milovanov, V. K.: cit. nach Goetze.

Milovanov, V. K., Selivanova, O. A.: cit. nach Anderson.

Morosow, V. A.: cit. nach Heinke.

Nürnberger, L.: Klinische und experimentelle Untersuchung über die Lebensdauer der menschlichen Spermatozoen. Monatschr. Geb. Gynäk. 53, 87, 1920.

Peter: cit. nach Redenz.

Phillips, R. W., Andrews: The speed in travel of ram semen. Anat. Record. 68, 127, 1937

Piana, G. P.: cit. nach Knaus.

Pincus, G., Enzmann, E. V.: The comparative behaviour of mammalian eggs in vivo and in vitro J. exp. Med. 1935, 62, 665. J. Exp. Biol. 1936, 73, J. exp. Zool. 1939, 82

Priesel, A.: cit. nach Knaus.

Quinlan, Maré, Roux: cit. nach Goetze.

Redenz, E.: Wzbg. Abhandlungen Bd. 24, Heft 5, 107, - 150, 1926.

Redenz, E.: Arch. f. Entw. Mech. Ab. 103, 593, 1924.

Redenz, E.: Arch. f. Entw. Mech. Bd. 106, 290, 1925.

Retzius, G.: Biol. Untersuchungen, N. V. XIV Fischer, 150, Jena, 1909.

Rosenberger, G.: Der Einfluß Vitamin-E-freier Ernährung auf die Hodenentwicklung und Entstehung von Unfruchtbarkeit bei Ziegenböcken. Ber. an d. Min. für Landw. und Ernährung, 1941.

Schultz, A. H.: cit. nach Knaus.

Sobotta, J.: Was wird aus den in den Uterus ejakulierten und nicht zur Befruchtung verwendeten Spermatozoen? Arch. mikrosk. Anat. 94, 185, 1920.

Spath, F.: Über Samenleiter-Sperroperationen. Arch. klin. Chir. 178, 737, 1934.

Spath, F.: Die Auswirkungen von Sterilisierungs-Operationen im Tierexperiment und beim Manne. Wien, Klin. Wschr. 36, 1935.

Stigler, R.: Wärmelähmg,u.Wärmestarre d.menschl. Spermat. Pfl.Arch.Bd. 155, 201, 1914
Der Einfluß d.Nebenhodens auf die Vitalität. Pfl.Arch.Bd. 171, 273, 1918

Trendelenburg, P.: Aus Heffter A. Handb. d. experim. Pharm. Bd. I, 470 - 503.

Verocay, J.: cit. nach Knaus.

Walker, E.: Brit. Med. J. 297, 1922

Weiss, K.: Morphologie der Bullenspermien unter besonderer Berücksichtigung der Entwicklungsgeschichte der Biologie und der färberischen Darstellung. Sonderdruck Nr. 8 aus Heft 2/III Bd. 1951, Milchwirtschaftlicher Verlag Karl Mann Hildesheim.

Windstosser, K.: Über die Atmung der Säugetierspermien. Klin. Wschr. 103, 1935.

Young, W. C.: cit. nach Doepfmer.

Lebenslauf

Als Sohn des Kaufmanns Hermann Sigler und seiner Ehefrau Elisabeth, geb. Häußler, wurde ich am 16. Januar 1931 in Plochingen am Neckar geboren. Nach dem Besuch der Volksschule von 1937 - 1941 und der Oberschule für Jungen in Kirchheim - Teck von 1941 - 1950 legte ich dort die Reifeprüfung ab. Bis zu Anfang meiner Studienzeit im Sommersemester 1951 in Würzburg arbeitete ich im Labor meines Großvaters, der Zahnarzt ist.

Nach dem 3. Semester bestand ich am 28. Oktober 1953 die zahnärztliche Vorprüfung und mein Staatsexamen am 4. März 1955. Beide Prüfungen absolvierte ich an der Julius-Maximilians-Universität in Würzburg. Seit Beendigung meines Staatsexamens arbeite ich an meiner Promotionsarbeit.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig verfaßt und außer der angegebenen Literatur keine weiteren Hilfsquellen benutzt habe.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich bisher von keiner anderen Seite ein Dissertationsthema zur endgültigen Bearbeitung erhalten habe. Ein mir früher zugeteiltes Thema habe ich ordnungsgemäß zurückgegeben.

Hermann Sigler

RUDOLF BAEHR DRUCK- UND WERBETECHNIK
WÜRZBURG EGLOFFSTEINSTR. 5